

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1906-1907

N° 57

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE

L'ACTION PHYSIOLOGIQUE

de quelques matières colorantes
et de leur élimination urinaire

Travail de laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Bordeaux

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 18 Janvier 1907.

PAR

Marie-Camille-Henry GRAVELLAT

Elève du Service de Santé de la Marine
né à Saintes (Charente-Inférieure), le 17 Octobre 1882.

Examineurs de la Thèse	{	MM. JOLYET, professeur.....	Président
		FERRE, professeur.....	Juges.
		ANDÉRODIAS, agrégé.....	
		GAUTRELET, agrégé.....	

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur
les diverses parties de l'Enseignement médical.

BORDEAUX

IMPRIMERIE COMMERCIALE ET INDUSTRIELLE

56, rue du Hautoir, 56

1907

UNIVERSITE DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1906-1907

N° 57

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE
L'ACTION PHYSIOLOGIQUE
de quelques matières colorantes
et de leur élimination urinaire

Travail de laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Bordeaux

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 18 Janvier 1907.

PAR

Marie-Camille-Henry GRAVELLAT

Élève du Service de Santé de la Marine
né à Saintes (Charente-Inférieure), le 17 Octobre 1882.

Examineurs de la Thèse

MM. JOLYET, professeur.....	Président.
FERRÉ, professeur.....	
ANDÉRODIAS, agrégé.....	Juges.
GAUTRELET, agrégé.....	

**Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur
les diverses parties de l'Enseignement médical.**

BORDEAUX
IMPRIMERIE COMMERCIALE ET INDUSTRIELLE
56, rue du Hautoir, 56

1907

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. PITRES..... Doyen. | M. DE NABIAS..... Doyen honoraire.

PROFESSEURS :

MM. MICÉ.....	}	Professeurs honoraires.
DUPUY.....		
FIGUIER.....		
MASSE.....		
MM.		
Clinique interne.....	PICOT.	Chimie.....
Clinique externe.....	PITRES.	Histoire naturelle.....
Pathologie et thérapeu- tique générales.....	DEMONS.	Pharmacie.....
Thérapeutique.....	LANELONGUE.	Matière médicale.....
Médecine opératoire..	VERGELY (en congé).	Médecine expérimentale
Clinique d'accouchements	MONGOUR (chargé).	Clinique ophtalmologi- que.....
Anatomie pathologique	ARNOZAN.	Clinique des maladies chirurgicales des en- fants.....
Anatomie.....	N.	Clinique gynécologique.
Anatomie générale et histologie.....	LÉFOUR.	Clinique médicale des maladies des enfants.
Physiologie.....	COYNE.	Chimie biologique.....
Hygiène.....	CANNIEU.	Physique pharmaceuti- que.....
Médecine légale.....	VIAULT.	Pathologie exotique....
Physique biologique et électricité médicale.	JOLYET.	
	LAYET.	
	N.	
	BERGONIE.	
		MM.
		BLAREZ.
		GUILLAUD.
		DUPOUY.
		DE NABIAS.
		FERRE.
		BADAL.
		DENUCE
		BOURSIER.
		MOUSSOUS.
		DENIGES.
		SIGALAS.
		LE DANTEC.

PROFESSEURS ADJOINTS :

Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	MM. DUBREUILH.
Clinique des maladies des voies urinaires.....	POUSSON.
Clinique des maladies du larynx, des oreilles et du nez.....	MOURE.
Clinique des maladies mentales.....	REGIS.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

SECTION DE MÉDECINE (*Pathologie interne et Médecine légale*).

MM. HOBBS.	MM. VERGER.
MONGOUR.	ABADIE.
CABANNES.	

SECTIONS DE CHIRURGIE ET ACCOUCHEMENTS

Pathologie externe ...	MM. CHAVANNAZ.	Accouchements.....	MM. FIEUX.
	BÉGOUIN.		ANDÉRODIAS
	VENOT.		

SECTION DES SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

Anatomie.....	MM. GENTES.	Physiologie.....	MM. GAUTRELET
	CAVALIÉ.	Histoire naturelle....	BEILLE.

SECTION DES SCIENCES PHYSIQUES

Chimie.....	M. BENECH.	Pharmacie.....	M. BARTHE.
-------------	------------	----------------	------------

COURS COMPLÉMENTAIRES :

Pathologie interne.....	RONDOT.
Accouchements.....	ANDÉRODIAS.
Physiologie.....	GAUTRELET.
Ophtalmologie.....	LAGRANGE.
Hydrologie et minéralogie.....	BEILLE.

Le Secrétaire de la Faculté : LEMAIRE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS PARENTS

A MA GRAND'MÈRE SAVARY

En témoignage de la reconnaissance et
de l'affection que j'ai pour elle.

A MON PÈRE

Puisse l'offrande de ce modeste travail
compenser un peu tout ce que tu as
fait pour moi; qu'elle soit au moins
la preuve de mon immense affection
et de ma reconnaissance infinie.

A MA MÈRE

Gage de mon amour filial.

A MES SOEURS CAMILLE ET MARIE-LOUISE

Que j'unis dans une même et grande
affection sur laquelle elles pourront
toujours compter.

A MON BEAU-FRÈRE LE DOCTEUR A. LABOISNE

Souvenir très affectueux.

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A TOUS CEUX QUI M'ONT PORTÉ DE L'INTÉRÊT

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ ET DE LA MARINE

A MES CAMARADES DU CORPS DE SANTÉ DE LA MARINE
ET DES COLONIES

AU DOCTEUR GEOFFROY

MÉDECIN DE DEUXIÈME CLASSE DE LA MARINE

En souvenir des bons jours passés, en
témoignage de ma vive amitié.

A MES AMIS, LE DOCTEUR P. GOILLON

MÉDECIN DES COLONIES

ET

LE DOCTEUR E. BERNARD

Je garderai de la charmante intimité
dans laquelle j'ai vécu avec vous, le
plus agréable des souvenirs.

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE DOCTEUR J. GAUTRELET

PROFESSEUR AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE BORDEAUX

CHARGÉ DU COURS COMPLÉMENTAIRE DE PHYSIOLOGIE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

OFFICIER D'ACADÉMIE

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE DOCTEUR JOLYET

PROFESSEUR DE PHYSIOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE BORDEAUX

MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

DIRECTEUR DE LA STATION ZOOLOGIQUE D'ARCACHON

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

AVANT-PROPOS

Arrivé à cette dernière étape de notre vie scolaire, deux sentiments bien naturels se font jour en nous. C'est d'abord un sentiment de joie, en voyant se terminer la longue série d'efforts qu'il nous a fallu fournir pour atteindre la carrière dans laquelle nous allons entrer. C'est aussi et surtout un élan de reconnaissance qui va vers ceux qui, par l'intérêt qu'ils nous ont porté, ont facilité notre tâche et nous ont aidé à la mener à bien.

Nous ne saurions oublier la sollicitude affectueuse avec laquelle, lorsque bien jeune encore nous débutions au lycée d'Angoulême, l'excellent ami de notre famille, M. Bernard, s'est appliqué à nous inculquer le goût du travail et de l'effort. Nous le remercions bien sincèrement de ses conseils, dont nous comprenons aujourd'hui toute l'importance et tout le prix.

A l'Ecole-annexe de Médecine Navale de Rochefort, nous avons reçu de tous nos maîtres l'accueil le plus affable, et nous garderons du temps passé auprès d'eux le meilleur souvenir. Nous exprimons tout particulièrement notre reconnaissance à M. le docteur Julien-Laferrière et à M. le docteur Brochet pour le bienveillant intérêt qu'ils nous ont porté.

Les marques de sympathie que nous avons reçues à la Faculté de Médecine de Bordeaux sont nombreuses et nous lais-

sons derrière nous, en la quittant, une grosse dette de reconnaissance.

Nos remerciements vont d'abord à M. le professeur Jolyet qui a bien voulu faire de nous son élève, en nous admettant pendant trois ans dans son laboratoire ; durant ce temps, nous l'avons toujours trouvé prêt à nous prodiguer ses conseils et sa bienveillance. Il nous fait aujourd'hui l'honneur de présider notre thèse ; cette marque d'intérêt, que nous savons apprécier à sa juste valeur, nous touche profondément. Qu'il nous soit permis de lui dire que nous emportons de lui le souvenir d'un Maître dont la bonté n'a d'égale que la science.

M. le professeur Régis, auprès duquel nous avons passé un temps trop court à notre gré, a bien voulu s'intéresser à nous : qu'il soit assuré de notre vive gratitude.

M. le professeur agrégé Gautrelet a droit à toute notre reconnaissance. Après nous avoir fourni le sujet de notre thèse, il a bien voulu nous guider dans la voie difficile de l'Expérimentation, mettant sans compter sa science et son temps à notre disposition. Il nous a accordé en outre son amitié, mettant ainsi le comble à ses bontés. Nous garderons de lui le souvenir ému d'un Maître et d'un ami à qui nous devons beaucoup et que nous regrettons de quitter.

MM. les professeurs agrégés Andérodias, Cabannes, Chavannaz, Gentès, Verger, nous ont toujours réservé le plus bienveillant accueil et nous ont souvent fourni des preuves de l'intérêt qu'ils nous portaient, nous les remercions bien vivement et les assurons de notre entière reconnaissance.

Nous n'oublierons pas les bonnes relations que nous avons toujours eues avec M. le docteur Soulé ; qu'il soit assuré de toute notre sympathie.

Enfin, nous ne saurions terminer sans adresser nos plus sincères remerciements à nos camarades Cantin et Lajus, qui, lorsque mis à mal nous-même par les nombreux colorants ingérés, nous ont complaisamment prêté leur personne pour nous permettre de continuer notre expérimentation sur l'hom-

me. Nous les prions de nous excuser si nous leur avons causé quelques émotions et quelques malaises, et tout en leur disant sincèrement merci, nous les assurons de nos sentiments bien amicaux.

Merci aussi à nos camarades Bonnel et Veillet pour leur aimable collaboration.

INTRODUCTION

Lorsque, il y a déjà plus d'un an, nous demandions à M. Gautrelet de vouloir bien nous indiquer le sujet de notre travail inaugural, il nous conseilla de poursuivre les recherches qu'il avait commencées avec notre regretté camarade Ducrot sur la physiologie des matières colorantes.

Nous nous sommes mis à l'œuvre, et nous avons débuté par des études sur l'action des colorants naturels et artificiels sur la cellule vivante. Puis, attaquant l'expérimentation, nous avons recherché l'action du bleu de méthylène en injections chez l'animal, en ingestions chez l'homme. Poursuivant la série des colorants dérivés de l'aniline, nous avons étudié les actions produites par le violet de méthyle, l'éosine, le neutralroth, la fuchsine, le vert malachite, le bleu marine, ces couleurs étant choisies comme types de séries.

Abandonnant alors le groupe des colorants artificiels, nous avons étudié le groupe des colorants naturels, tels que le carmin d'indigo, la garance, l'hématoxyline. Nous avons exécuté toutes nos recherches chez le lapin et, chaque fois que nous l'avons pu, nous avons étendu notre expérimentation à l'homme.

Cette étude nous a amené à diviser au point de vue physiologique les matières colorantes en deux groupes :

Les colorants actifs.

Les colorants inactifs.

Frappés d'autre part par ces faits que nous ne retrouvions pas dans les urines, soit en nature, soit sous forme de chromogènes tous nos colorants injectés ou ingérés, nous avons poussé plus loin nos investigations au sujet du sort de ces matières colorantes. Guidés par les travaux de SCHMIEDEBERG et de WERTHEIMER sur l'élimination de l'aniline par l'organisme, nous avons recherché ce que devenaient ces colorants. Nous avons ensuite démontré par l'expérience le rôle capital du foie dans cette transformation.

L'ordre dans lequel nous avons effectué ces recherches, est celui que nous avons adopté pour notre travail.

Nous ne saurions nous dissimuler que notre œuvre présente des lacunes, nous aurions essayé de les combler, si le temps ne nous était pas mesuré. Nous présenterons donc à nos juges les résultats acquis en quinze mois de travail et nous pensons que si notre œuvre est loin d'atteindre la perfection désirée, elle leur représentera une somme d'efforts suffisante pour mériter leur indulgence.

CHAPITRE PREMIER

Action des colorants naturels et artificiels sur la cellule vivante

Les tentatives de *colorations vitales* ne sont point l'apanage de notre temps, s'il faut en croire le marquis TSENG ; dès la plus haute antiquité, les Chinois avaient observé et pratiqué la coloration vitale des os par l'ingestion de garancé.

Plus près de nous, FLOURENS, DUHAMEL, SERRES (1739), instituent des expériences dans ce but.

HECKEL (1875), montre les phénomènes de localisation présentés par un certain nombre de couleurs végétales. La garance, le campêche, le bois du Brésil, colorent les os en rouge, le curcuma en jaune.

HEIDENHAIN (1875), examine l'action de l'indigo-sulfate de soude sur les glomérules du rein des animaux à température constante. POUCHET et LE GOFF (1875) constatent la fixation du carmin par les éléments anatomiques vivants, VON VITICH (1875) colore les glomérules du rein par injection de carmin ammoniacal.

MER (1877) laissant séjourner des animaux tels que l'*Helix Pomatia*, dans une solution à 1/200 de carmin d'indigo, signale que la matière colorante se fixe au bout de quelques heures sur les cristalloïdes contenues dans les cellules rénales, ainsi

que sur les globules de nature protéique, contenus dans les cellules hépatiques.

CERTES (1881), dans ses recherches sur les infusoires vivants, reconnaît que ceux-ci se colorent et continuent à vivre dans une solution de bleu de quinoléine. Dans un mémoire paru en 1885, il signale que plusieurs autres substances colorantes, notamment le bleu de méthylène, paraissent troubler profondément la vitalité des infusoires. On observe au bout d'un certain temps, sur la plupart des espèces, un ralentissement des mouvements, les contractions de la vacuole contractile deviennent de moins en moins fréquentes.

BRANDT et HENNEGUY (1881) signalent aussi des colorations de la cellule vivante par l'hématoxyline, le brun de Bismark.

En 1885-86, ERlich publie ses recherches sur les effets du bleu de méthylène injecté dans la circulation. Il se fixe, nous dit cet auteur, avec une élection parfaite sur les tubes nerveux, en particulier sur les cylindres-axes. A la suite de ces constatations, il était intéressant de se demander pourquoi le colorant se fixait avec une telle électivité sur la substance nerveuse. Le professeur ERlich donne à ce phénomène l'explication suivante : la fixation du bleu de méthylène par la matière vivante est une réaction d'ordre chimique, favorisée par la présence du soufre dans la molécule du bleu de méthylène. Si d'autres éléments ne se colorent pas, telle la cellule hépatique, c'est qu'elle possède un pouvoir réducteur autrement grand que celui de la matière nerveuse. La coloration d'un élément vivant serait donc fonction des propriétés réductrices de la cellule à laquelle on s'adresse. Lorsque le bleu de méthylène se trouve en présence de ces éléments réducteurs, il se transforme en corps très voisins capables de régénérer la matière colorante sous diverses influences. Les travaux d'ACHARD et CASTAIGNE (1897), de VOISIN et HAUSER (1897) ont établi que lorsqu'on injecte ou fait ingérer du bleu de méthylène à un animal ou à l'homme, on retrouve dans les urines, soit par simple agitation à l'air, soit par l'addition d'acide acétique et la chaleur, un corps qui communique au liquide

une coloration bleue ou verte. Ce corps a été désigné sous le nom de chromogène, ou leucodérivé.

Cette transformation *in vivo* du colorant est aussi réalisée *in vitro* soit par des organismes inférieurs, staphylocoque, colibacille, bacillus subtilis, soit en mettant la matière colorante en présence de tissus frais d'animaux qu'on venait de sacrifier (ACHARD et CASTAIGNE, 1897).

L'expérience suivante réalisée par NEISSER et WECHSBERG (POUCHET 1904, p. 146), prouve d'une façon très suggestive la décomposition du colorant, par la cellule vivante. Ils choisissent un exsudat renfermant une certaine quantité de leucocytes et y ajoutent 1/2 centimètre cube d'une solution très diluée de bleu de méthylène mélangée à 1 centimètre cube 1/2 d'une solution physiologique de chlorure de sodium, ils ont observé que, toutes les fois que l'on mettait cette solution en contact avec les leucocytes vivants elle était rapidement décolorée tandis que, au contraire, les leucocytes morts avaient perdu la propriété d'opérer cette décoloration.

L'action des colorants sur les êtres monocellulaires a été aussi étudiée par ERLICH (1886). Il observa que si on met en présence d'une solution de bleu de méthylène certaines bactéries saprophytes et saprogènes, les unes sont détruites, d'autres sont capables de se développer dans des milieux énergiquement colorés, dans ces conditions, il voyait le bleu transformé par ces bactéries en granulations noires.

STILLING (1890-91), s'est aussi longuement occupé de l'action des colorants sur les microbes. Il a mis en lumière l'action offensive de certains d'entre eux, en particulier du bleu de méthylène, du violet de méthyle et de l'auramine sur ces agents microbiens. C'est d'ailleurs à la suite de ces recherches que ces colorants furent lancés en chirurgie sous le nom de *Pyocktanines* comme agents d'antiseptie.

Les travaux de COMBEMALE (1891), signalent d'autre part l'action toxique du bleu de méthylène sur les globules sanguins. Pour cet auteur, l'action du colorant sur la cellule est double : premièrement, le bleu mis en présence des globules

les fixe ; secondement, il opère la transformation de l'hémoglobine en mothémoglobine les rendant ainsi absolument impropres à leur fonction. Ces faits sont d'ailleurs à rapprocher de ceux signalés par POUCHET (1904) au sujet de l'action de la quinine et de l'antipyrine sur le sang.

L'action fixatrice du bleu de méthylène (CHALEIX-VIVIE, 1901 ; MARY, 1895-96). et du violet de méthyle (POUCHET, 1904) sur le gonocoque a été mise bien des fois en évidence, et l'emploi de ces colorants est devenu en thérapeutique d'un usage assez fréquent dans les affections provoquées par ce micro-organisme.

L'hématozuaire du paludisme présente vis-à-vis du bleu de méthylène une sensibilité très grande, se laissant énergiquement fixer et détruire par ce colorant. Les travaux de (SIGAUT, 1893-94 ; DREMONT, 1900-01 ; POUCHET, 1904), qui se sont occupés d'une façon toute spéciale de la question, ne laissent aucun doute à cet égard.

L'action destructive du bleu de méthylène sur la filaire (FLINT) est signalée dans la pathologie exotique du professeur LE DANTEC (1905).

Enfin, on sait et nous avons constaté ce fait dans nos expériences, qu'il se forme des eschares aux points où on répète les injections de certains colorants, du bleu de méthylène en particulier.

Cette conception de l'action fixatrice et destructive de certains colorants, vis à vis de la cellule vivante, a été partagée par bien des auteurs, elle a servi de principe à plusieurs méthodes thérapeutiques dirigées contre les affections néoplasiques DOMEC (1894-95) — tuberculeuses CHANCEL (1903-04), MORY (1903-04), PERROTE (1903-04), RENON et GIRAUD (1903) — Syphilitiques, GARGAUD (1903-04) — En chirurgie, après les travaux de STILLING (1890) les *Pyocktanes* furent d'un emploi courant comme agents antiseptiques. STRIMANSKY (1890) — TISSIER (1891) — FIEUX et LUGEOL (1894) — PRIoux (1897) — SUEUR (1900-01) — KOHLER (1900-01).

De ces faits ainsi que de ceux exposés par TALAT (1886),

TALAT et PILLIET (1886), CHIMKIEVITCH (1898), PRZESMYCKI (1897), MITROPHANOW (1889), BINET (1889), DONATI (1903), MADER (1903), PILLIET (1890), RAEHLMANN (1906), SACERDOTTI (1903), VIZIOLI (1903), nous pouvons conclure que les différents colorants sont loin de se comporter de la même façon vis à vis de la cellule vivante : tantôt certains colorants ne peuvent réaliser son imprégnation, d'autres la colorent sans nuire à ses propriétés vitales, d'autres modifient pour un temps sa vitalité, d'autres enfin la fixent d'une façon définitive. Ces faits semblent battre en brèche la théorie de certains histologistes qui veulent que, lorsqu'un colorant imprègne la matière vivante, il ne touche qu'aux éléments cellulaires qui n'ont aucune activité propre (grains de sécrétion, inclusions leucocytaires introduites dans les globules par phagocytose) GALEOTTI (1894). D'autre part, HENNEGUY et BOLLES-LEE (1896) concluent : « S'il y a eu teinture véritable..... en aucun cas ce ne sera de la matière pleinement et parfaitement vivante ». C'est là, à notre avis, une conclusion un peu trop absolue, il y aurait lieu, nous semble-t-il en pareil cas, de se ranger à une opinion un peu plus éclectique ; car, d'une part, les recherches faites sur l'action des colorants sur la cellule vivante et d'autre part les résultats obtenus dans nos propres expériences ne nous permettent pas d'admettre sans réserves les conclusions de ces auteurs.

Nous avons vu que certaines matières colorantes ne peuvent arriver à réaliser la coloration de la matière vivante. A ce sujet, il était intéressant de se demander pourquoi, dans certains cas, la cellule ne se laissait pas imprégner par le colorant ? Une hypothèse ingénieuse, due au botaniste Suisse OVERTON (1900), a été émise en réponse à la question. Pour cet auteur « les substances qui pénètrent dans les cellules animales ou végétales vivantes appartiennent au groupe des couleurs basiques. Celles, au contraire, qui ne sont pas absorbables sont en général des colorants acides. Or, toutes les substances du premier groupe sont solubles dans les graisses, les acides gras, la lécithine, la lanoline, la cholestérine, corps auxquels Overton

a donné le nom de *lipoides*. Les substances non absorbables par la cellule vivante ne sont pas solubles dans les *lipoides*. Il y aurait un rapport entre la solubilité d'un corps dans les *lipoides* et son pouvoir de pénétration dans les cellules vivantes. La coloration de certains éléments cellulaires est expliquée si l'on admet que chaque élément cellulaire est recouvert d'une pellicule marginale de protoplasma imprégné de *substance lipuide*. Cette pellicule oppose une barrière aux substances non solubles dans les *lipoides*, elle permet la pénétration des substances colorantes solubles dans ceux-ci. » (LAUNOIS, 1906). Pour OVERTON, la cellule conserverait donc son intégrité vis-à-vis de certains colorants grâce à un enduit protecteur constitué par des *lipoides*. Nous avons vu précédemment qu'ERLICH donnait un rôle important aux réductions chimiques que la matière vivante était capable d'opérer sur le colorant. D'un côté, c'est un phénomène passif qui a lieu en dehors de la cellule elle-même; de l'autre, c'est un phénomène actif par lequel la cellule se défend contre le colorant. Sans vouloir nier l'existence de cette enveloppe protectrice de la cellule signalée par OVERTON, nous ne saurions admettre que le fait de la non-imprégnation cellulaire par le colorant, soit la résultante d'un phénomène aussi simple que celui qu'il expose et dans lequel la matière vivante ne jouerait aucun rôle. Il nous semble plus rationnel d'admettre avec ERLICH (1886), que la cellule se défend contre le colorant par ses propres moyens et qu'elle lui fait subir des transformations plus ou moins profondes suivant sa nature et suivant ses propriétés réductrices.

Nous avons cru devoir mettre en tête de notre travail ces considérations d'ordre biologique, à caractère un peu général, parce qu'il nous a semblé intéressant de rapprocher les faits signalés par les auteurs dont nous venons d'étudier les travaux, et les résultats acquis par la physiologie. Les récentes recherches entreprises tant en Italie qu'en France (CAVAZZANI, 1896-1897; RIBAUT, 1901; GAUTRELET et DUCROT, 1905; DUCROT, 1905; GAUTRELET et GRAVELLAT, 1905-1906-1907),

et les quelques résultats exposés dans cette thèse fournissent, nous semble-t-il, une explication à certains points controversés dans les théories précédentes. En tous les cas, il existe un parallélisme intéressant entre les faits constatés sur la cellule vivante et les résultats acquis dans les recherches sur l'action des colorants sur l'organisme et les organes. Enfin, désirant exposer l'action générale des colorants sur l'homme et sur l'animal, il nous a semblé logique de commencer par l'étude et l'exposé de leur action sur l'élément constitutif de l'être vivant; je veux dire la « cellule vivante ».

CHAPITRE II

Actions du bleu de méthylène sur l'organisme en injections chez l'animal, en ingestions chez l'homme.

Recherches chez l'animal. — L'animal que nous avons choisi pour exécuter nos expériences est le lapin mâle, à cause des grandes facilités qu'il présente pour le genre d'expérimentation auquel nous nous sommes livré.

Après avoir établi, par de nombreuses études, les chiffres entre lesquels pouvait varier le taux d'urée excrétée par un lapin, maintenu dans des conditions d'alimentation toujours les mêmes, nous avons constaté que ces chiffres oscillaient entre 5 grammes et 8 grammes d'urée par litre. Nos observations ont porté sur une série de 6 lapins, et ont été refaites plusieurs fois pour le même animal.

Cette donnée étant acquise, nous avons alors procédé aux injections sous-cutanées de bleu de méthylène en solution à saturation dans du sérum physiologique à 7 gr. 5 de chlorure de sodium par litre d'eau distillée, désirant éliminer ainsi la cause d'erreur qu'aurait pu apporter à nos expériences l'emploi d'une solution non isotonique.

La technique expérimentale dont nous nous sommes servi

depuis le début de nos expériences — et que nous n'avons jamais modifiée dans la suite — est la suivante : après avoir fixé l'animal, couché sur le dos, sur la planche à lapins ordinaire des laboratoires, nous introduisons dans l'urètre une sonde en gomme, correspondant aux numéros 7 ou 8 de la filière Charrière ; et nous pouvions ainsi retirer à notre gré l'urine de la vessie de l'animal. Une première prise d'urine étant faite, nous pratiquions alors, avec la seringue de Pravaz, une injection de 1 cc. de la solution de bleu de méthylène décrite plus haut. Nos dosages d'urée étaient faits à l'uréomètre de DENIGÈS, avec la correction de température indiquée par l'auteur, lorsque le thermomètre du laboratoire nous indiquait entre deux dosages des écarts de température capables d'introduire une cause d'erreur dans nos calculs.

Nous allons décrire avec tous leurs détails deux expériences parmi toutes celles que nous avons faites, nous contentant de signaler les autres en quelques mots. Une énumération complète semblerait fastidieuse et inutile, étant donné que toujours la marche des phénomènes a été la même.

EXPÉRIENCE N° 1.

Lapin n° 57 en état d'équilibre nutritif. — Le 28 novembre 1905.

A 9 h. 30 du matin, urée..... 6 gr. 93 p. 1000

Aussitôt à 9 h. 30, injection de 1 cc. de bleu de méthylène.

A 10 heures. Urine incolore: Chromogène par acide
acétique et l'ébullition. Urée..... 2 gr. 02 p. 1000

A 10 h. 30. Urines vert très clair, Chromogène par
la réaction habituelle. Urée..... 3 gr. 03 p. 1000

A 11 heures. Urines plus vertes. Chromogène plus
abondant. Urée..... 4 gr. 05 p. 1000

A 11 h. 30. Urines presque incolores. Chromogène
moins abondant. Urée..... 3 gr. 67 p. 1000

A midi. Urines légèrement vertes. Chromogène
abondant à l'acide acétique. Urée.... 5 gr. p. 1000

Jusqu'alors l'animal était fixé sur une planche avec une sonde à demeure. A ce moment il est remis en cage avec de la nourriture.

A 2 h. 30. Urines vert d'eau. Chromogène par la
réaction habituelle. Urée..... 3 gr. p. 1000

A 3 heures. Urines vert d'eau. Chromogène par la
réaction habituelle. Urée..... 4 gr. p. 1000

A 3 h. 30. Urines vert d'eau. Chromogène par la
réaction habituelle. Urée..... 4 gr. p. 1000

A 4 heures. Urines vert d'eau. Chromogène par la
réaction habituelle. Urée..... 3 gr. 50 p. 1000

A 4 h. 30. Urines plus colorées. Chromogène par la
réaction habituelle. Urée 6 gr. p. 1000
Urines très colorées en vert. Urée..... 7 gr. p. 1000

Le lendemain 29 novembre 1905, à 9 heures du matin, le chromogène est retrouvé dans l'urine en petite quantité. Le soir les urines ont repris leur coloration normale et le chromogène a disparu.

EXPÉRIENCE N° 10.

Lapin n° 29. Animal en état d'équilibre nutritif. 6 grammes d'urée environ par litre les jours précédents. — Le 4 décembre 1905 :

A 9 h. 20. Urée..... 6 gr. 50 p. 1000
Aussitôt à 9 h. 20, injection de 1 cc. de bleu de méthylène.

A 9 h. 40. Urines absolument incolores. Chromogène net par la réaction habituelle. Urée 2 gr. p. 1000

A 9 h. 50. Urines vert d'eau. Chromogène net par la réaction habituelle. Urée 2 gr. p. 1000

A 10 heures. Urines vert d'eau. Chromogène net par la réaction habituelle. Urée 3 gr. 05 p. 1000

A 10 h. 15. Urines vert d'eau. Chromogène net par la réaction habituelle. Urée 3 gr. 10 p. 1000

A 10 h. 30. Urines vert d'eau. Chromogène net par
la réaction habituelle. Urée 2 gr. p. 1000

A 11 heures. Urines vertes plus colorées. Chromogène
net par la réaction habituelle. Urée... 5 gr. p. 1000

Jusqu'alors l'animal est fixé sur la planche avec une sonde à demeure. Il est à ce moment remis en cage avec de la nourriture.

A 2 h. 30. Urines verdâtres. Chromogène révélé par
la réaction habituelle. Urée 6 gr. p. 1000

L'animal est remis en cage.

A 4 heures. Urines limpides vert d'eau. Chromogène
par la réaction habituelle. Urée..... 7 gr. 50 p. 1000

Le 5 décembre, à 9 heures du matin : chromogène dans l'urine ; à 2 heures ce même jour, les urines ont repris leur teinte normale, le chromogène a disparu par l'acide acétique et l'ébullition.

EXPÉRIENCE N° 2.

Lapin n° 30. — Le 24 novembre 1905.

Injection à 9 heures de 1 cc. de bleu de méthylène. A 9 h. 45, le chiffre de 2 gr. d'urée p. 1000 est atteint, le chiffre d'urée avant l'injection étant de 7 gr. p. 1000, les urines s'écoulent plus ou moins vertes, le chromogène est toujours révélé soit par l'acide acétique seul, soit par l'acide acétique et la chaleur.

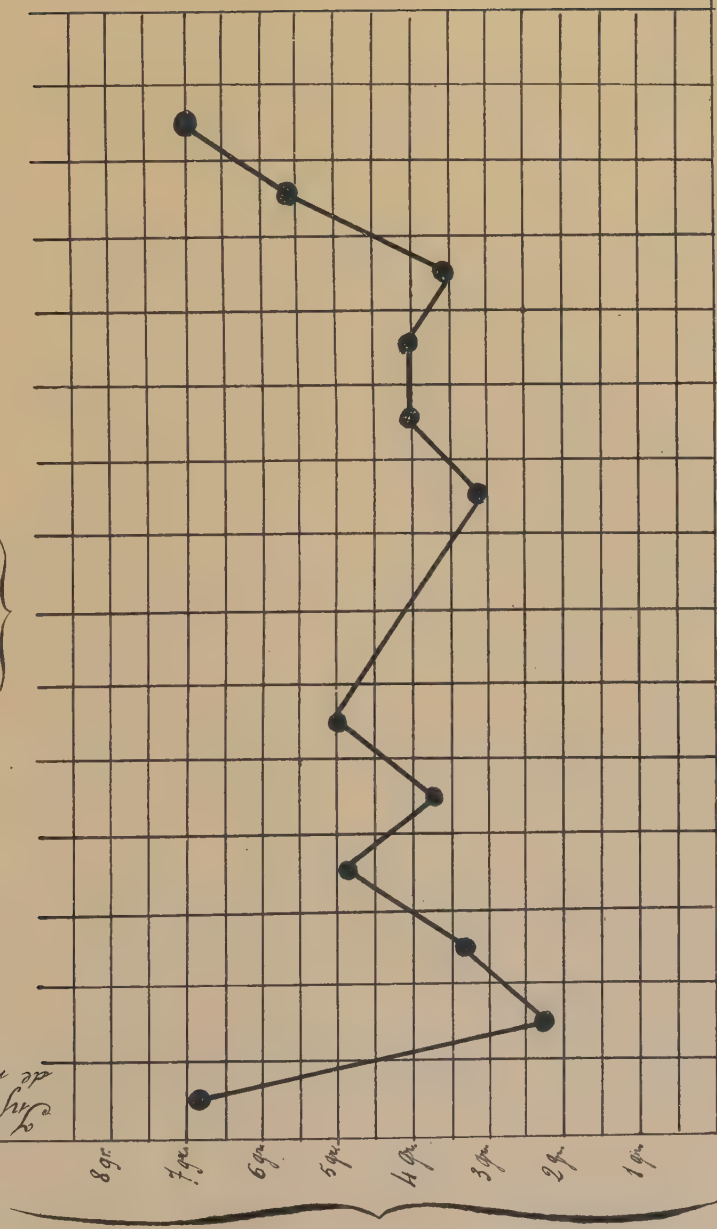
EXPÉRIENCE N° 5.

Lapin n° 25. — Le 1^{er} décembre 1905.

Chiffre de départ 8 gr. p. 1000. Injection à 8 h. 30. A 9 h. 10, urée : 2 gr. p. 1000. Urines vertes. Chromogène par les réactions habituelles.

Expérience du 28 Novembre 1905

Animal traité
de la nourriture



— heures des prises d'urine —

Lapin n° 57-

animal nourri normalement

- Quantités d'urée - exprimées en grammes et par litre d'urine.

EXPÉRIENCE N° 6.

Lapin n° 10. — Le 2 décembre 1905.

Chiffre de départ 6 gr. 5 p. 1000. Injection à 9 heures. A 9 h. 45, urée :
2 gr. 5 p. 1000. Urines vertes. Chromogène.

EXPÉRIENCE N° 7.

Lapin n° 21. — Le 5 décembre 1905.

Chiffre de départ 6 gr. p. 1000. Injection à 9 heures. A 9 h. 30, urée :
2 gr. p. 1000. Urines vertes. Chromogène.

EXPÉRIENCE N° 11.

Lapin n° 35. — Le 12 décembre 1905.

Chiffre de départ 7 gr. 5 p. 1000. Injection à 8 h. 20. A 9 heures, urée :
2 gr. p. 1000. Urines vertes. Chromogène.

EXPÉRIENCE N° 14.

Lapin n° 64. — Le 21 décembre 1905.

Chiffre de départ 8 gr. p. 1000. Injection à 9 h. 15. A 10 heures, urée :
2 gr. p. 1000. Urines vertes. Chromogène.

EXPÉRIENCE N° 19.

Lapin n° 56. — Le 5 janvier 1906.

Chiffre de départ 7 gr. 50 p. 1000. Injection à 9 h. 30. A 10 h. 5, urée :
2 gr. p. 1000. Urines vertes. Chromogène.

EXPÉRIENCE N° 20.

Lapin n° 95. -- Le 6 janvier 1905.

Chiffre de départ 8 gr. 5 p. 1000. Injection à 8 h. 40. A 9 h. 30, urée : 2 gr. p. 1000. Urines vertes. Chromogène.

EXPÉRIENCE N° 21.

Lapin n° 54. -- Le 8 janvier 1906.

Chiffre de départ 6 gr. 5 p. 1000. Injection à 9 heures. A 9 h. 35, urée : 2 gr. p. 1000. Urines vertes. Chromogène.

Les expériences qui précèdent démontrent que les injections sous-cutanées de bleu de méthylène, en solution saturée dans le sérum physiologique, abaissent nettement chez le lapin alimenté, le chiffre de l'urée excrétée. GAUTRELET et GRAVELLAT (1905)^a. Ces expériences seraient, il nous semble, assez probantes pour démontrer l'action du colorant sur l'élimination de l'urée; malgré cela, nous avons cherché à la mettre en évidence d'une façon plus complète encore. Nous y sommes arrivés au moyen de l'artifice physiologique suivant : le lapin, étant donné son alimentation végétale a, comme on l'a vu, un taux d'urée peu élevé. Nous avons pensé pour augmenter ce taux d'excrétion, à transformer notre animal en carnivore; grâce à ce moyen, nous avons vu les chiffres d'urée croître régulièrement, à mesure que le jeûne se prolongeait (GAUTRELET et GRAVELLAT) (1905)^b.

Nous avons procédé alors aux expériences suivantes, en adoptant la même technique que précédemment.

EXPÉRIENCE N° 3.

Lapin n° 53. -- Le 30 novembre 1905.

L'animal est mis à jeun à 9 heures du matin.

Son chiffre d'urée était alors de 6 gr. 5 p. 1000

A 11 heures..... Urée : 6 gr. p. 1000

A 2 h. 30..... Urée : 5 gr. 8 p. 1000

A 4 h. 30..... Urée : 6 gr. 5 p. 1000

Le 1^{er} décembre 1905.

Sur le même animal, nous obtenons, à 9 h. 10 du matin, le chiffre de 12 grammes d'urée pour 1000. Aussitôt, injection de 1 cc. de notre solution de bleu de méthylène.

A 9 h. 15..... Urée : 12 gr. p. 1000

A 9 h. 45. Urine verte limpide, chromogène à l'acide acétique et l'ébullition..... Urée : 8 gr. p. 1000

A 10 heures id. Urée : 4 gr. p. 1000

A 10 h. 15. Urine verte limpide, chrom. à l'acide acétique et l'ébullition..... Urée : 3 gr. p. 1000

A 10 h. 45 id. Urée : 6 gr. p. 1000

A 11 h. 15 id. Urée : 7 gr. p. 1000

L'animal est remis dans sa cage, toujours sans nourriture.

A 2 h. 30. Urines vert d'eau, chromogène à l'acide acétique et l'ébullition..... Urée : 10 gr. p. 1000

A 3 heures. Urines bleu indigo..... Urée : 30 gr. p. 1000

A 3 h. 30. Urine verte..... Urée : 26 gr. p. 1000

A 5 h. 30. Urine bleue..... Urée : 48 gr. p. 1000

L'animal est remis dans sa cage, où il passe la nuit sans aliments.

Le 2 décembre 1905.

A 9 heures du matin, nous obtenons des urines vert-bleu. Le dosage de l'urée nous fournit le chiffre de 72 gr. p. 1000.

Etant donné ce taux très élevé de l'urée chez l'animal en expérience, nous pratiquons sur lui, à 9 h. 40 du matin, une nouvelle injection de 1 centimètre cube de la solution de bleu de méthylène, afin d'en constater les effets :

A 9 h. 55. Urines vert clair. Chrom. à l'acide acétique et à l'ébullition..... Urée : 42 gr. p. 1000

A 10 h. 15	Urines vert clair. Chromogène	Urée : 22 gr. p. 1000
A 10 h. 25	id	Urée : 12 gr. p. 1000
A 10 h. 40	id.	Urée : 20 gr. p. 1000
A 11 heures	id.	Urée : 18 gr. p. 1000
A 11 h. 15	id.	Urée : 21 gr. p. 1000

Ces deux expériences, prises parmi d'autres semblables que nous avons exécutées, démontrent à nouveau et d'une façon encore plus saisissante que les premières, l'effet des injections de bleu de méthylène, c'est-à-dire l'abaissement du taux de l'urée. En transformant le lapin en carnivore, nous avons pu abaisser de 12 gr. à 3 gr. p. 1000 le chiffre de l'urée excrétée. Malgré que l'animal fut toujours en inanition et qu'il eut, par conséquent, tendance naturelle à augmenter physiologiquement son urée, nous voyons que celle-ci se maintient pendant deux heures autour du chiffre de 5 gr. p. 1000. Le lendemain, 2 décembre, le fait est plus frappant encore, c'est du chiffre de 72 gr. p. 1000 au chiffre de 12 gr. p. 1000 que passe le taux de l'urée éliminée. Nous avons, d'ailleurs, dressé une courbe résumant ces différents phénomènes, nous avons porté en *ordonnées* les quantités d'urée par litre d'urine et en *abscisses* les heures et les jours pendant lesquels l'expérience s'est poursuivie. Une courbe semblable a été dressée pour le lapin n° 57, en état d'équilibre nutritif.

Disons, avant d'aller plus loin, qu'afin de nous prémunir contre toute critique au sujet des expériences précitées, nous avons pratiqué chez le lapin en équilibre nutritif, autant que chez l'animal maintenu à jeun, des injections de sérum physiologique. Nous exposons ci-dessous les résultats obtenus :

EXPÉRIENCE n° 25.

Lapin n° 95. En équilibre nutritif. Le 10 janvier 1906.

A 1 h. 30..... Urée : 6 gr. 5 p. 1000.

Injection aussitôt de 1^{re} de sérum physiologique.

A 2 h. 30.....	Urée : 5 gr. 5 p. 1000.
A 2 h. 45.....	— 6 gr. p. 1000
A 3 heures.....	— 5 gr. 50 p. 1000.
A 3 h. 30.....	— 5 gr. p. 1000.

EXPÉRIENCE N° 26.

Lapin n° 54, En équilibre nutritif. Le 11 janvier 1906.

A 2 h. 20.....	Urée : 5 gr. p. 1000.
----------------	-----------------------

Aussitôt injection de 6^{cc} de sérum physiologique.

A 2 h. 45.....	Urée : 6 gr. 50 p. 1000.
A 3 heures.....	— 6 gr. p. 1000.
A 3 h. 30.....	— 5 gr. 50 p. 1000.

EXPÉRIENCE N° 27.

Lapin n° 56. A jeun depuis 24 heures. Le 12 janvier 1906.

A 9 h. 30.....	Urée : 10 gr. p. 1000.
----------------	------------------------

Aussitôt injection de 1^{cc} de sérum physiologique.

A 10 heures.....	Urée : 11 gr. 5 p. 1000.
A 10 h. 30.....	— 10 gr. p. 1000.
A 11 heures.....	— 10 gr. 5 p. 1000.

EXPÉRIENCE N° 28.

Lapin n° 64. A jeun depuis 48 heures. Le 13 janvier 1906.

A 8 h. 30.....	Urée : 45 gr. p. 1000.
----------------	------------------------

Aussitôt injection de 6^{cc} de sérum physiologique.

A 9 heures.....	Urée : 42 gr. p. 1000.
A 9 h. 30.....	— 43 gr. 5 p. 1000.
A 10 heures.....	— 48 gr. 5 p. 1000.

A la suite de ces expériences où nous nous sommes placés dans les mêmes conditions que précédemment augmentant même les doses du liquide injecté, il nous semble que l'on ne peut pas faire intervenir dans le mécanisme de l'abaissement du chiffre de l'urée soit une question de dilution, soit une question d'émotivité.

D'autre part, chez le lapin normalement alimenté, nous avons toujours signalé une coloration verte des urines; au contraire, chez le lapin en inanition, nous avons relaté une couleur bleue du liquide. Parfois même, il nous est arrivé de signaler des urines incolores avec un chromogène que nous mettions en évidence par l'acide acétique et l'ébullition. Ces faits, nous semble-t-il, méritent quelques développements. Aussitôt après qu'ACHARD et CASTAIGNE (1897) eurent proposé l'emploi du bleu de méthylène en clinique pour aider au diagnostic des affections rénales, VOISIN et HAUSER (1897) indiquèrent que ce colorant pouvait s'éliminer de deux façons :

- 1° Sous la forme d'un leucodérivé;
- 2° Sous la forme du colorant lui-même.

En effet, et c'est là un fait signalé depuis longtemps (GRAEBE et LIEBERMANN, 1868), par la chimie des colorants, la majorité des substances colorantes est susceptible d'être transformée sous l'influence des agents réducteurs en leucodérivés substances incolores ou très faiblement colorées, qui, oxydées, régénèrent le colorant primitif. Ces leucodérivés peuvent régénérer le colorant parfois sous la simple influence de l'air, le plus souvent sous l'influence d'agents d'oxydation plus énergiques.

Une expérience très simple met en évidence l'action oxydante de l'air. Si, dans un liquide contenant le chromogène du bleu de méthyle par exemple, on chasse l'air en faisant passer un courant d'azote, la régénération du bleu ne se produit pas, ce qui prouve que celle-ci est bien due à l'action de l'oxygène de l'air. Parfois l'oxygène de l'air ne peut suffire, même aidé par l'action de l'acide acétique et de la chaleur dont l'emploi

constitue la réaction classique, lorsqu'on se trouve en présence du chromogène du bleu de méthylène. OTTO N. WITT (1876), en effet, dans son étude sur les affinités tinctoriales des chromogènes nous dit: « les chromogènes sont peu colorés et n'ont aucune affinité pour la fibre ils deviennent colorants et colorés d'une façon intense par l'adjonction des groupes salifibales OH et AZH^2 qui sont des groupes *auxochromes* (de $\alpha\upsilon\chi\alpha\upsilon\epsilon\iota\nu$ = augmenter), d'après la dénomination qu'il leur a donnée. Quels sont les points de l'organisme où se forme le chromogène ? Nous ne saurions fournir à ce sujet aucun renseignement précis. Il est probable que la plupart des tissus peuvent opérer la transformation du colorant en leucodérivé, et cette transformation doit s'opérer d'autant plus facilement et complètement que la propriété réductrice des tissus est plus accentuée. Un rôle important serait, dans ce cas, dévolu à la cellule hépatique, car le foie est sans nul doute l'organe le plus réducteur de l'économie; n'est-il pas, en effet, l'agent défenseur de l'organisme vis-à-vis d'une foule de substances médicamenteuses ou de substances toxiques produites par les différents phénomènes nécessaires à l'entretien de la vie. C'est précisément à ces propriétés réductrices que la cellule hépatique doit de pouvoir les modifier d'une façon telle qu'elles ne présentent plus de propriétés offensives. Ce rôle réducteur peut d'ailleurs être augmenté par certaines substances, le bi-carbonate de soude, par exemple. POUCHET (1904).

La transformation du bleu de méthylène en chromogène, est réalisée *in vitro* par la cellule hépatique. Nous avons en effet, souvent assisté à l'expérience suivante : Si on injecte dans le foie, par la veine porte, une solution de bleu de méthylène, il se produit au sein du parenchyme hépatique une coloration non pas bleue, mais verdâtre, caractéristique de la transformation du colorant en chromogène; de plus, le liquide qui ressort par les veines sus-hépatiques possède une coloration verte.

D'autre part, ACHARD et CASTAIGNE (1897) ont constaté, qu'au lieu même de l'injection, il se formait une transforma-

tion du colorant en leucodérivé. Ils démontrent ce fait de la manière suivante : après avoir injecté dans le péritoine d'un animal une solution faible de bleu de méthylène dans l'eau salée, retirant le liquide un certain temps après, ils constatent qu'il ne renferme plus le colorant en nature, mais contient du chromogène.

ALBARRAN et BERNARD (1899), dans des expériences sur des animaux ont démontré qu'il existe, ou plutôt qu'il se forme du chromogène dans les tissus du rein, mais que tout le bleu de méthylène n'y arrive pas sous cette forme, puisque les vaisseaux sont colorés en bleu.

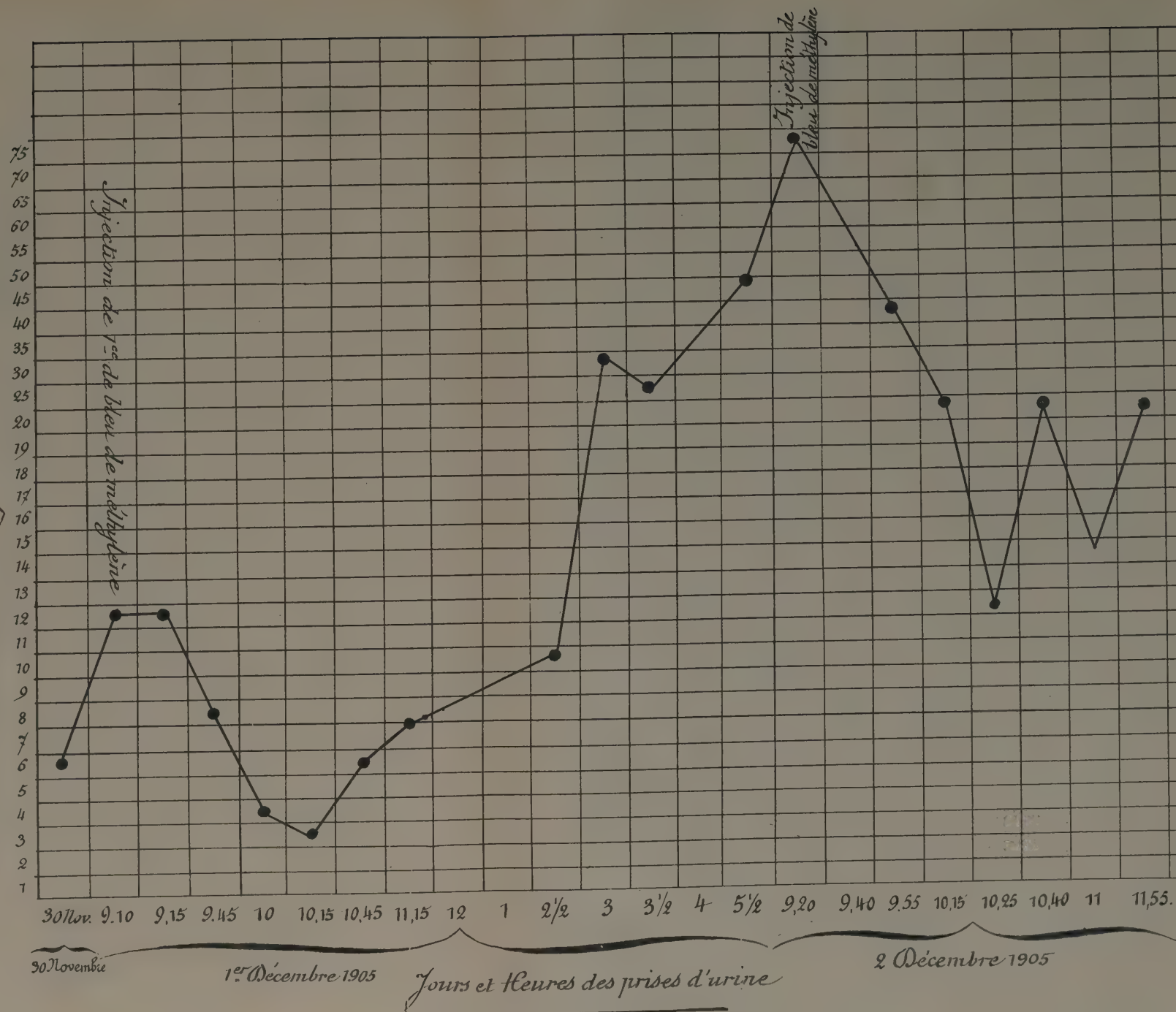
Dans le sang, le bleu de méthylène est susceptible d'être réduit : nous avons exposé dans notre premier chapitre une expérience, NEISSER et WESCHBERG, cités par POUCHET (1904), montrant la propriété que possèdent les leucocytes de transformer le bleu en chromogène. On voit donc que, un peu partout, dans l'organisme, le bleu de méthylène peut subir la modification qui donne naissance au leucodérivé.

Sous quelle forme ce colorant existe-t-il dans le sang ? C'est là une question qui a provoqué les recherches de bien des auteurs, et ALBARRAN (1905), notamment, s'est livré à des expériences destinées à élucider ce problème ; malgré la diversité des méthodes employées, cet auteur n'a pu retrouver le colorant soit en nature, soit sous forme de chromogène ; il attribue ce résultat à l'extrême dilution où se trouve le bleu de méthylène ou ses dérivés dans le sang. Nous avons, nous aussi, pratiqué des recherches dans le même but sur le sérum sanguin et malgré l'emploi des réactions les plus oxydantes, nous n'avons obtenu aucun résultat.

Cependant, la présence du colorant dans le sang, évidente à priori, s'y confirme aisément par l'expérience suivante : ALBARRAN (1905, p. 107). Cet auteur, injecte dans le tissu cellulaire sous-cutané d'un chien, 1 centimètre cube de la solution à 1/20 de bleu de méthylène ; une heure après, le bleu passe dans les urines ; quatre heures après, en pleine élimination du colorant, il pratique une saignée par l'artère fémorale.

Lapin 97053 Expériences du 1^{er} et 2 Décembre 1905
à jeun depuis le 3 Novembre 1905

Quantités d'urée - exprimées en grammes et parties d'urine -



Il prélève 40 centimètres cubes de sérum et l'injecte dans le tissu cellulaire d'un autre chien. Une heure après et pendant quelques heures consécutives, l'urine de ce chien, injecté avec le sérum, contient du bleu de méthylène. Cette expérience met en évidence la présence dans le sang non coloré du bleu ou d'un dérivé de cette matière colorante. Pourquoi, puisque le sérum n'est pas coloré, urine-t-on bleu ? c'est qu'on suppose que la matière colorante se régénère au niveau du rein. (VOISIN et HAUSER 1897.)

Cette décoloration du bleu de méthylène peut être réalisée, *in vitro*, par des substances capables de fixer avec assez d'avidité, l'oxygène de l'air dans certaines circonstances, le glucose par exemple. Si l'on met dans un tube à expériences une solution de glucose en présence d'une solution de bleu de méthylène et, si on élève quelque peu la température, on verra le liquide primitivement coloré en bleu, devenir incolore. Si on laisse refroidir, la solution reprend la teinte bleue. C'est d'ailleurs en se basant sur ce fait que certains auteurs : BREMER (1896), MARIE et LEGOFF (1897), ont recherché par le bleu de méthylène soit dans le sang, soit dans l'urine, la présence du sucre. Peut-être y a-t-il à faire un rapprochement entre cette réduction du bleu de méthylène par le glucose et la propriété puissamment réductrice de la cellule hépatique vis-à-vis de ce colorant. Nous-même avons réalisé la décoloration du bleu de méthylène en le mettant en présence de sulfhydrate d'ammoniaque. Quoi qu'il en soit, il nous semble que les phénomènes qui, dans l'organisme, président à la transformation du bleu de méthylène, sont beaucoup plus complexes. Nous n'en voulons pour preuve que la nature différente des deux leucodérivés qui prennent naissance à la suite des injections de bleu de méthylène : l'un, par simple agitation à l'air, régénère le colorant primitif, l'autre doit être mis en présence d'acide acétique et d'une assez forte élévation de température pour donner naissance au colorant dont il dérive. Le premier chromogène serait, paraît-il, le produit de fermentations microbiennes ; le second serait celui formé par les tissus. (VOISIN et HAUSER 1897.)

Le bleu de méthylène rencontre donc dans l'organisme des agents qui le réduisent et le font s'éliminer sous la forme de chromogène ou leucodérivé. Tout au début de l'élimination, les urines sont incolores quoique contenant ce chromogène, c'est à ce moment qu'il faut avoir recours aux réactions oxydantes (agitation à l'air, acide acétique et ébullition), pour saisir sa présence ; plus tard, une demi-heure après l'injection dans nos expériences, les urines prennent une teinte verte qui va en s'accroissant plus ou moins, c'est toujours le chromogène qui passe ; si à ce moment on oxyde le leucodérivé, on peut lui faire prendre une teinte bleue rappelant celle du colorant injecté. Nous devons dire que, lorsque chez nos lapins inanitiés, nous avons vu les urines prendre une teinte bleue le chromogène existait encore, c'est-à-dire une partie du colorant avait subi l'action réductrice de l'organisme. En effet, si au moment où les urines étaient franchement colorées en bleu, on les jetait sur un filtre chargé de noir de charbon, on avait un filtrat parfaitement incolore dans lequel on pouvait facilement faire apparaître une teinte verte par l'acide acétique et l'ébullition.

Pourquoi, chez le lapin alimenté, avons-nous vu le colorant s'éliminer tout le temps sous forme de chromogène, pourquoi chez l'animal à jeun, avons-nous vu une partie du colorant passer en nature ? C'est peut-être là un fait dû, comme le pensent (LIROSSIER et BARJON, (1898) à la réaction de l'urine, alors que chez l'homme normal, dont les urines sont acides, on voit, à un moment donné, le colorant passer en nature ; si pour un motif pathologique, pyélonéphrite, cancer, ou à la suite d'absorption de médicaments, bicarbonate de soude par exemple, les urines deviennent alcalines, on verra le bleu de méthylène s'éliminer entièrement sous forme de chromogène. Sans vouloir trancher le différend qui s'est élevé à ce sujet entre ces auteurs et ACHARD et CASTAIGNE (1898), nous convenons que chaque fois que nous avons vu le bleu s'éliminer sous forme de chromogène, les urines étaient alcalines, elles étaient acides au contraire (lapin inanitié), quand nous l'avons vu passer en nature.

Nous devons dire avant de terminer cette étude sur l'élimination du bleu de méthylène que le colorant ne disparaît pas de l'organisme uniquement par l'urine. Il s'élimine aussi par la bile les expériences suivantes citées par ALBARRAN (1905) en fournissent la preuve. Si on traite la bile recueillie chez un animal soit par fistule, soit après la mort, par le sous-acétate de plomb on provoque un précipité qui entraîne les matières colorantes normales de la bile et qui laisse un liquide légèrement teinté en bleu-verdâtre. Le seul inconvénient de ce procédé serait d'entraîner une partie du bleu de méthylène, il en reste, néanmoins, toujours assez dans le liquide pour lui communiquer la teinte caractéristique de ce colorant. Sa présence peut être mise en évidence par le même procédé dans le liquide recueilli à la suite de vomissements bilieux, chez des sujets injectés au bleu de méthylène. Nous-même avons constaté bien des fois que la vésicule biliaire des lapins qui servaient à nos expériences n'avait pas, après la mort, sa coloration verte habituelle mais bien une coloration bleu-verdâtre.

Les glandes lacrymales elles-mêmes contribuent à l'élimination du colorant. En effet, après avoir recueilli dans un certain nombre de cas les larmes de nos lapins, nous avons pratiqué sur ce liquide lacrymal la réaction du chromogène par l'aide acétique et l'ébullition et nous avons vu chaque fois apparaître la teinte verte caractéristique du leucodérivé.

Après avoir mis en évidence d'une façon aussi nette que possible, l'action générale, sur l'organisme de l'animal, des injections de bleu de méthylène, nous avons voulu serrer le problème de plus près. Nous avons recherché quels étaient les organes intéressés et aussi le mécanisme de cet abaissement de l'urée que nous avons vu se répéter dans chacune de nos expériences. Nous allons exposer les recherches que nous avons exécutées pour élucider ce délicat problème. Reprenant les expériences citées précédemment tant chez le lapin en état d'équilibre nutritif que chez l'animal privé de nourriture, nous avons, dans une cinquantaine de cas, observé les faits suivants (GAUTRELET et GRAVELLAT, 1906)^a.

Un quart d'heure après l'injection de 1^{cc}. de la solution de bleu de méthylène dans le sérum physiologique, les urines incolores donnent la réaction du chromogène par l'acide acétique et l'ébullition.

L'azote total diminue.

La réaction de Nessler indique nettement l'apparition de l'ammoniaque urinaire.

Quarante-cinq minutes après l'injection, l'azote est tombé au chiffre de 2 p. 100 environ, la réaction reste positive,

Dans les heures qui suivent, on voit le chiffre d'azote remonter légèrement et ce, parallèlement à l'élimination du pigment qui colore les urines. Puis, tout d'un coup, on constate une décharge considérable d'azote (de 12 à 15 g. environ) de bleu. Le nessler donne à ce moment une forte coloration rouge et réduit fortement l'urine d'où le dichroïsme caractéristique.

Puis dans un temps assez variable, l'animal revient à peu près à son chiffre d'azote primitif. Nous venons de donner là, un schéma général qui peut s'appliquer à toutes les expériences que nous avons entreprises dans le même but. Chez le lapin à jeun les chiffres ont été supérieurs, mais tout est resté proportionnel au schéma exposé et les mêmes phénomènes se sont produits.

Nous allons interpréter maintenant les différents faits qui, dans nos expériences, peuvent apporter quelque explication à la question que nous nous sommes posée. Alors qu'avant l'injection du bleu, la réaction de Nessler restait sans effet sur les urines de nos animaux, nous avons vu que quelques instants après au contraire, la coloration rouge caractéristique apparaissait au sein du liquide traduisant effectivement la présence d' AzH^3 dans l'urine GAUTRELET et GRAVELLAT (1906)^b de ce fait, nous devons conclure que le foie n'était plus apte à pratiquer la synthèse de l'urée aux dépens de toute l'ammoniaque que lui fournissait l'organisme. Cette insuffisance hépatique nous a encore été démontrée par l'étude de la réaction de l'urine, l'alcalinité des urines augmentait en effet chez le lapin normal et l'acidité diminuait chez le lapin inanitié après l'injection. Dans un cas même, nous avons pu constater de

visu, au moyen du papier au tournesol, un changement de réaction; chez un lapin inanitié, nous avons vu l'urine dont la réaction était devenue acide, prendre une réaction nettement alcaline une heure et demie environ après l'injection du colorant. Chez ce même animal, le lapin n° 95, l'acidité de l'urine était mesurée par 15 centimètres cubes de NaOH n/10 p. 1000 avant l'injection; une demi-heure après l'injection elle n'était plus égale qu'à 10 centimètres cubes de NaOH n/10 p. 1000.

Nous avons essayé de faire dans l'urine des dosages de l' AzH^3 par le procédé de SCHLOESING, avant et après l'injection.

Avant l'injection :

Chez le lapin, n° 95 :

AVANT L'INJECTION :

Avant l'extraction de l' AzH^3	Az. total.....	7 centimètres cubes
Après — —	Az. uréique...	7 —

APRÈS L'INJECTION :

Avant l'extraction de l' AzH^3	Az. total.....	2 centimètres cubes
Après — —	Az. uréique...	1 cc. 18.

Chez le lapin n° 96 :

AVANT L'INJECTION :

Av. l'extrac. de l'ammoniaque	Az. total.....	6 centimètres cubes
Ap. — —	Az. uréique...	6 —

APRÈS L'INJECTION :

Avant l'extraction de l' AzH^3	Az. total.....	2 centimètres cubes
Après — —	Az. uréique...	1 cc. 20.

Ces rapports de l'azote total à l'azote uréique sont les rapports maxima que nous avons trouvés après les injections de

bleu, mais l'ammoniurie est, en général, beaucoup plus légère. Ces résultats sont à comparer avec ceux obtenus après les suppressions partielles ou totales du foie. SABRAZÈS (1904), ou à ceux obtenus par GAUTRELET et MALTÉ (1906), après la suppression physiologique de l'organe par des injections de fluorure de sodium.

Il semble donc, après ces faits, que les injections sous-cutanées de bleu de méthylène ne sont pas sans action sur la fonction uréopoiétique du foie.

Nous avons aussi recherché ce que devenait la fonction glycogénique de cette même fraude. Nous avons constaté parfois une légère réduction de la liqueur de FEHLING.

De ces faits, nous concluons donc que le bleu de méthylène inhibe en partie et pour un temps l'activité vitale de la cellule hépatique. D'ailleurs CAVAZZANI (1897) d'une part, mais alors par des injections dans la veine porte de violet de méthyle, avait constaté une action sur la thermogénèse et la glycogénèse hépatique, et RIBAUT (1901) d'autre part, par de semblables injections avait pu amoindrir la fonction anticoagulante du foie.

Il nous reste maintenant à étudier le mécanisme de l'abaissement de l'azote urinaire (GAUTRELET et GRAVELLAT, 1906)^e. Nous avons constaté dans les cinquante expériences que nous avons pratiquées sur le lapin après une injection de 1 cent. cube de bleu de méthylène en solution à saturation dans le sérum physiologique, un abaissement constant de l'azote urinaire jusqu'au chiffre de 2 grammes environ pour 1000 chez le lapin normal, et à des chiffres variables chez le lapin inanitié, suivant le moment du jeûne où nous pratiquions l'injection.

La question à se poser est donc la suivante : l'hypoazoturie traduit-elle une moindre désassimilation de l'azote organique ou un arrêt de la sécrétion rénale ? Nos recherches durant deux mois ont porté sur ce problème.

La perméabilité glomérulaire est intacte ; en effet l'eau, les sels minéraux, l'ammoniaque, le glucose et même des traces d'albumine passent.

La seule fixation des cellules des tubuli peut-elle expliquer l'abaissement de l'urée ? Evidemment, nous devons admettre avec la plupart des auteurs, KUHNE (1894), GARNIER (1904), POLICARD (1904) une coloration des cellules sécrétoires du rein. La perméabilité physique des tubuli est conservée : nous avons pratiqué des injections de bile en même temps que des injections de bleu et nous avons constaté par la réaction de GMELIN la présence de pigments biliaires dans l'urine. Puisque la plupart des auteurs affirment la coloration des cellules des tubuli, la pigmentation ne saurait donc toucher qu'à l'activité sécrétoire. Nous devons l'admettre pour une part mais nous ne saurions attribuer à elle seule l'abaissement presque la suppression de l'azote excrété. En effet, si on injecte une dose considérable de bleu de méthylène, 6 cc. par exemple, on obtient toujours la coloration des cellules des tubuli et cependant l'élimination azotée n'est que très légèrement modifiée comme en rend compte l'expérience suivante.

EXPÉRIENCE N° 35.

Lapin n° 31 à jeun. — Le 22 février 1906.

Sondage à 9 h. 20 Urée 18 gr. p. 1000.

Injection à 9 h. 25 de 6 cc. de bleu de méthylène.

Sondage à 9 h. 50 Urée 16 gr. p. 1000.

— 10 h. 25 — 12 gr. p. 1000.

— 11 h. 15 — 14 gr. p. 1000.

Toutes nos autres expériences pratiquées dans les mêmes conditions ont eu un résultat analogue.

Cette expérience cruciale démontre que l'on doit envisager la diminution de l'azote total non comme une résultante de la fermeture du rein, mais comme la résultante d'une désassimilation moindre. Autrement dit nous mettons ainsi en évidence

l'action des injections sous-cutanées de bleu de méthylène sur la nutrition par la réduction des phénomènes de catabolisme.

Est-ce là le fait d'une action nerveuse (trophisme) — ERLICH (1886), — analogue à celle de l'antipyrine et de la quinine, (POUCHET 1904), ou d'une action sur les globules sanguins, COMBEMALE (1891). Nous ne saurions trancher la question. Sans doute, l'éclectisme convient. Cependant, les phénomènes observés (hyperexcitabilité, convulsions), indiquent certainement une action du colorant soit directe (ERLICH, 1886), soit indirecte (COMBEMALE, 1890), sur le système nerveux. En résumé, nous pouvons donc conclure que, chez l'animal, les injections sous-cutanées de bleu de méthylène en solution à saturation dans du sérum physiologique agissent :

- 1° sur le foie;
- 2° sur le rein;
- 3° sur la nutrition.

L'action la plus constante et la plus accentuée étant l'action sur la nutrition.

Recherches chez l'homme. — Après avoir établi chez les sujets sur lesquels nous avons pratiqué nos expériences, que dans la matinée, à jeun, les variations de l'urée n'étaient que très peu sensibles, nous avons administré par ingestion des doses variables de bleu de méthylène, soit en pilules, soit en cachets. Nous ne nous occuperons pas de la façon dont le colorant s'est éliminé, nous contentant de signaler que, dans tous les cas, elle a été conforme au cycle d'élimination normale déjà bien des fois étudié.

Nous allons exposer les résultats acquis dans trois de nos expériences, étant donné que nous avons vu se reproduire dans tous les cas, les mêmes phénomènes.

EXPÉRIENCE N° 38.

Sur nous-même, à jeun, dans la matinée du 20 mars 1906.

Miction à 8 h. 30..... Urée : 16 gr. p. 1000. Réaction acide.

Prise d'une pilule de bleu de 0.15 cgr. à 8 h. 40, avec une très minime quantité d'eau.

Miction à 9 h. 20, chromogène... Urée : 10 gr. 5 p. 1000. R. alcaline.

— 9 h. 40, urines vertes.. — 5 — p. 1000. R. alcaline.

— 9 h. 55 — — 4 — p. 1000. R. neutre.

— 10 h. 25 — — 8 — p. 1000. R. neutre.

— 11 heures — — 12 — p. 1000. R. neutre.

— 11 h. 30 — — 15 — p. 1000, légèrement acide.

EXPÉRIENCE N° 40.

Sur nous-même, à jeun, dans la matinée du 17 mai 1906.

Miction à 9 heures... Urée 15 gr. p. 1000. Réaction acide.

A 9 h. 5, prise d'une pilule de bleu de 0,05 centigrammes.

Miction à 10 heures, chromogène.. Urée : 10 gr. p. 1000. R. alcaline.

— 10 h. 30, urines vertes.. — 8 — p. 1000. R. neutre.

— 11 heures — — 12 — p. 1000. R. neutre.

— 11 h. 30, — — 14 — p. 1000. R. acide.

EXPÉRIENCE N° 41.

Sur notre camarade H.-L., à jeun, dans la matinée du 20 mai 1906.

Miction à 8 heures..... Urée : 15 gr. p. 1000. R. acide.

A 8 h. 5, prise en cachet de 30 cgr. de bleu de méthylène.

Miction à 8 h. 30, chromogène.....	Urée : 12 gr.	p. 1000. R. alcaline.
— 9 heures, urines vertes..	— 10 — 5 p.	1000. R. alcaline.
— 9. 30 —	— 5 —	p. 1000. R. alcaline.
— 10 heures, —	— 12 —	p. 1000. R. neutre.
— 11 — —	— 12 —	p. 1000. R. acide.
— 11. 30, —	— 16 —	p. 1000. R. acide.
— 1. 30, après le repas —	— 19 —	p. 1000. R. acide.
— 3 heures, —	— 17 —	p. 1000. R. acide.

Nos expériences montrent que l'action des injections de bleu de méthylène à saturation dans du sérum physiologique, sur la nutrition est tout aussi nette chez l'homme que chez l'animal, les actions sur le foie et sur le rein sont cependant moins manifestes. Cela tient probablement à ce que nous n'avons pas fourni à l'organisme humain des doses assez considérables de colorant. Si notre expérimentation sur l'homme ne nous permet pas d'affirmer d'une façon aussi ferme l'action du bleu de méthylène sur la glande hépatique et sur le rein, les faits cliniques que nous avons recueillis vont nous permettre de montrer l'action offensive de ce colorant sur les organes que nous venons de signaler. Il s'agit, en premier lieu, d'un individu qui, à la suite d'une intoxication sulfo-carbonée, provoquée par sa profession, était en butte, à des accidents cérébraux et à une néphrite aiguë accompagnée de polyurie. Dans le but de déterminer la perméabilité rénale, on lui fit une injection de 5 centigrammes de bleu de méthylène parfaitement pur, à la suite de laquelle il eut une oligurie extrêmement marquée, sans autres phénomènes inquiétants. On pratiqua, peu de temps après, une nouvelle injection de 5 centigrammes du même colorant : il en résulta une anurie absolue, puis deux ou trois heures après une hématurie profuse et le sujet mourut dans le coma au bout de neuf heures. Il semble impossible de ne pas incriminer ici, dans l'exacerbation des symptômes de néphrite, l'emploi du bleu de méthylène. (POUCHET, 1904, p. 145, t. IV.)

Un autre exemple concerne une femme atteinte d'artério-

selérose et de lésion hépatique, qui à la suite d'une injection de bleu de méthylène de 5 centigrammes présenta des symptômes d'intoxication attribuables assurément à l'action du colorant sur le foie et sur le rein. (POUCHET, 1903, p. 146, t. IV.)

Les actions du colorant sur le foie et sur le rein ne sont pas les seules, parmi celles que nous avons signalées, que la Clinique confirme. L'emploi du bleu de méthylène dans le diabète, dans l'albuminurie n'est-il pas une preuve du pouvoir modificateur de ce colorant vis-à-vis des échanges organiques.

En effet, certains auteurs signalent que, dans plusieurs cas de diabète, on a pu obtenir un abaissement notable de la quantité de glucose et cela sans avoir recours à une alimentation spéciale. Dans plusieurs observations, la diminution du glucose dans l'urine a été considérable dès le début de l'administration du bleu de méthylène et le passage du glucose est devenu à peu près nul, lorsqu'on a institué le régime alimentaire qui convient aux diabétiques. Il a suffi d'une dose de 50 centigrammes par jour, pendant quelques jours, pour voir les symptômes s'amender d'une façon très notable, on a même pu, après quatre ou cinq semaines, constater la disparition complète du glucose. (POUCHET, 1904.)

Dans certains cas de néphrite, on a aussi employé le bleu de méthylène pour diminuer l'albuminurie. Ici les résultats sont moins constants, car si le bleu a une action sur la nutrition, nous avons vu qu'il avait aussi une action offensive sur le rein, aussi les données sont-elles moins sûres de ce côté. Nous pouvons donc conclure, après l'exposé de ces résultats, que le bleu de méthylène se conduit vis-à-vis de l'homme, autant que vis-à-vis de l'animal, comme un agent capable d'entraîner des modifications importantes dans les phénomènes intimes de la nutrition et dans le fonctionnement de la glande hépatique et du rein.

Cependant, malgré les propriétés offensives attribuées depuis longtemps au bleu de méthylène, ce colorant a pourtant été employé comme explorateur fonctionnel d'organes tels que le

foie et le rein. Déjà les faits signalés en dehors de nos recherches auraient dû l'éliminer, à la suite des résultats que nous avons signalés, le bleu de méthylène nous semble impropre à remplir le rôle d'explorateur fonctionnel; nous venons, en effet de démontrer qu'il a précisément une action sur les organes qu'il s'agit d'explorer.

Quelles sont les conditions requises pour qu'une matière puisse servir à l'exploration fonctionnelle d'un organe? Nous lisons dans le Traité de Pathologie générale de BOUCHARD (1903) que la méthode des éliminations provoquées est fondée sur le principe suivant : « *Connaissant une substance qui, sans inconvénient possible pour l'économie, met en jeu le fonctionnement de l'organe en cause; qui d'autre part est facile à retrouver dans les sécrétions et notamment dans l'urine, ou qui amène l'excrétion par l'urine d'une substance aisée à y déceler on la fait absorber par le malade à une dose déterminée et l'on étudie ensuite l'élimination provoquée. Des résultats de cet examen on peut conclure au mode de fonctionnement du viscère* », GOUGET (1903). C'est de ce principe que sont nées l'épreuve de SALI pour le pancréas, l'épreuve d'EWALD et SIEWERS pour l'estomac, pour le rein les épreuves de la fuchsine, BOUCHARD; de la rosaniline, LÉPINE (1898); DREYFUS (1898); de la phloridzine ou trisulfonate de soude, ACHARD ET DELAMARE (1898); de l'iodure de potassium, LAFAYE (1893); du salicylate de soude, GERMAIN SEE (1877); de la chlorure alimentaire expérimentale, CLAUDE ET MAUTÉ (1902); de la chlorurie alimentaire spontanée, RAYNAUD (1904) et enfin l'épreuve du bleu de méthylène pour le rein, ACHARD ET CASTAIGNE (1897) et pour le foie, CHAUFFARD (1903).

Sans vouloir intervenir davantage dans le procès du bleu de méthylène comme explorateur des fonctions du rein et du foie (BODONI, 1899; DEVOTO, 1899; LIXOSSIER et BARJOU, 1898; LANDAU, 1902; CHARRIN, 1902; FERRANINI, 1901), et sans vouloir refuser toute importance aux résultats que fournit son emploi en pareil cas, nous concluerons qu'il représente une substance qui ne saurait répondre aux conditions bien précises exigées par la méthode des éliminations provoquées.

CHAPITRE III

Action physiologique de diverses couleurs d'aniline sur l'animal et sur l'homme

Violet de méthyle. — Les premières recherches opérées sur l'action du violet de méthyle sur les éléments vivants remontent à STILLING (1890-91), qui étudia dans ses travaux sur les *Pioktanines*, les effets de ce colorant sur les microbes. Cet auteur établit que ce colorant avait des propriétés antiseptiques des plus énergiques, supérieures même à celles des autres corps qu'il étudia avec lui, le bleu de méthylène et l'auramine, et qu'il conseilla à la chirurgie comme agents d'antisepsie. Une solution de 1 p. 1000 de violet de méthyle, constitue un antiseptique des plus énergiques; lorsque la solution est à 1 p. 30.000, il ralentit dans une très large mesure les phénomènes de putréfaction des matières albuminoïdes; à 1 p. 60.000, il est encore capable de colorer les bactéries pyogènes et de les immobiliser, c'est-à dire de les empêcher de donner naissance à la suppuration POUCHET (1904).

D'autre part, les recherches de CATTANEO, cité par POUCHET (1904), contribuent à montrer l'action offensive du violet de méthyle sur la cellule vivante. Cet auteur avait remarqué qu'une solution de fluorescéine injectée dans le cul-de-sac con-

jonctival ne produisait une coloration de la cornée, que si l'épithélium avait été détruit auparavant en un point quelconque, permettant ainsi à la matière colorante de se diffuser. Or, chez un animal, en installant d'abord quelques gouttes de solution de violet de méthyle au millième, il constatait que l'installation consécutive de fluorescéine produisait une coloration plus ou moins intense de la cornée, preuve que l'épithélium avait été détruit par le colorant, **POUCHET (1904)**.

On mit à profit, en thérapeutique, l'action destructive du violet de méthyle sur le gonocoque de **NEISSER**. On l'a également utilisé dans le traitement des tumeurs malignes inopérables. **VON MOSETIG MOORHOF**, cité par **POUCHET (1904)**.

Les recherches exécutées sur l'action dynamique du bleu de méthylène et du violet de méthyle ont montré que ce dernier colorant possède, à un moins haut degré il est vrai, les propriétés analgésiques du bleu de méthylène, grâce à une action méthémoglobinisante des plus manifestes.

Enfin **CAVAZZANI (1896-97)** et **RIBAUT (1901)** ont réalisé par l'emploi d'une solution de violet de méthyle, la suppression des fonctions glycogénique, thermogénique et anticoagulante du foie.

GAUTRELET et **DUROT (1905)**, **DUROT (1905)**, ont pu, par des injections de ce colorant dans le système circulatoire, réaliser chez le chien la suppression physiologique des plexus choroïdes et déterminer, grâce à la paralysie fonctionnelle ainsi provoquée, le rôle exact de ceux-ci.

Les expériences que nous allons exposer, montrent son action indiscutable sur la nutrition. Ces expériences ont été exécutées en partie par nous, en partie par notre ami **E. BERNARD**, que nous remercions à cette occasion de son précieux concours.

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE N° 50.

Lapin n° 34. — Le 28 mars 1906.

Sondage à 2 h. 20 de l'après-midi. Urée 7 gr. p. 1000.

Injection à 2 h. 30, de 1^{cc} d'une solution de violet de méthyle dans du sérum physiologique.

Sondage à 3 heures. Urines incolores. Urée 4 gr. p. 1000.

— 3 h. 15. — — 3 gr. p. 1000.

— 4 heures. — — 5 gr. p. 1000.

— 4 h. 30. — — 4 gr. p. 1000.

— 4 h. 45. — — 6 gr. p. 1000.

— 5 heures. — — 8 gr. p. 1000.

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 51.

L'expérience est pratiquée le 31 mars 1906 sur nous-même.

Miction à 8 h. du matin. Urée 19 gr. p. 1000.

A 8 h. 10, prise d'un cachet de 0,15 cgr. de violet de méthyle.

Miction à 9 heures. Urines incolores. Urée 15 gr. p. 1000.

— 9 h. 30. — — 10 gr. p. 1000.

— 10 h. 45. — — 13 gr. p. 1000.

— 12 h. — — 17 gr. p. 1000.

Ces deux expériences peuvent servir de type à toutes celles que nous avons pratiquées avec le violet de méthyle. On remarquera que nous n'avons jamais signalé une coloration des urines pas plus que nous n'avons noté la présence de chromogène. Nous avons cependant pratiqué la recherche du leucodérivé, dans tous les cas les réactifs employés, acide acétique et chaleur, eau oxygénée, acide azotique fumant, n'ont jamais

provoque l'apparition, au sein du liquide, d'une coloration violette ou autre nous indiquant la présence du colorant.

Si, dans l'emploi du violet de méthyle, aux doses où nous l'avons administré, on ne retrouve pas cette matière colorante dans les urines soit en nature soit sous forme de leucodérivé, en tous les cas, il est un fait qui ressort nettement de la lecture de nos expériences, c'est l'abaissement de l'azote total à la suite des injections ou ingestions de ce colorant: Comme le bleu de méthylène, le violet de méthyle modifie donc les échanges organiques en les diminuant. En pratiquant la recherche de l' AzH^3 dans les urines par le réactif de NESSLER, nous avons constaté, pendant la diminution de l'azote, une abondance anormale de l'ammoniaque urinaire. Ce fait qui nous a frappé par sa constance dans le cas particulier de ce colorant indique, nous semble-t-il, une paralysie notable de la fonction uréopoiétique de la glande hépatique.

Eosine. — Si on sait depuis longtemps que l'éosine est un excellent réactif plasmatique, ce que l'on connaît beaucoup moins bien, c'est son action sur les organes et les tissus. Les recherches expérimentales de LEGOFF et SAINTON (1898), exécutées sur la grenouille et sur le chien, mettent en lumière ses propriétés toxiques. Ces auteurs notent de la torpeur, des paralysies, de l'insensibilité, des eschares aux points d'injection et enfin la mort dans quelques cas.

Nous allons donner deux de nos expériences dont les résultats nous permettront de conclure aussi aux propriétés offensives de ce colorant.

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE N° 54.

Lapin n° 35. — Le 7 juin 1906.

Sondage à 9 h. 20..... Urée 5 gr. p. 1000.

Injection à 9 h. 30, de 1^{cc} d'une solution d'éosine.

Sondage à 9 h. 35.	Urines incolores.....	Urée	4 gr. 5 p.	1000.
— 9 h. 45.	Urines rouge brique.			
	Fluorescentes.....	Urée	4 gr.	p. 1000.
— 10 h. 15.	Urines rouge brique.			
	Fluorescentes.....	Urée	3 gr. 5 p.	1000.
— 10 h. 45.	Urines rouge brique.			
	Fluorescentes.....	Urée	3 gr.	p. 1000.
— 11 h. 20.	Urines rouge brique.			
	Fluorescentes.....	Urée	5 gr.	p. 1000.

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 55.

Cette expérience a été pratiquée sur nous-même dans la matinée du 8 décembre 1906.

Miction à 8 h. 10.....	Urée	15 gr.	p.	1000.
Prise à 8 h. 15 d'un cachet contenant 0.15 centigrammes d'éosine.				
Miction à 9 h. 10.	Urines fluorescentes...	Urée	6 gr.	p. 1000.
— 10 h. 20.	Urines fluorescentes à coloration un peu rosée.....	Urée	8 gr.	p. 1000.
— 11 h. 30.	Urines fluorescentes, coloration rose très nette.....	Urée	11 gr.	p. 1000.
— 1 h. 50.	Urines fluorescentes, moins colorées.....	Urée	17 gr.	p. 1000.
— 3 h. 50.	Urines fluorescentes pas de coloration...	Urée	15 gr.	p. 1000.
— 6 h.	Plus de fluorescence, plus de coloration ..	Urée	17 gr. 5 p.	1000.

A la suite des expériences, que nous venons de décrire et de celles que nous avons exécutées avec le même colorant, nous sommes autorisés à conclure avec LEGOFF et SAINTON, que

l'éosine est un colorant actif, dont l'activité s'est manifestée à nous par un abaissement notable du chiffre de l'azote total chez l'homme et l'animal.

A la suite des faits que nous avons observés à l'actif de ce colorant nous ne saurions être, pour les motifs que nous avons exposés dans notre second chapitre, de l'avis de LEGOFF et SAINTON lorsqu'ils conseillent l'éosine comme explorateur fonctionnel d'organes.

Neutralroth. — Les résultats que nous avons obtenus par l'emploi du neutralroth en injections chez l'animal, en ingestions chez l'homme, sont en tous points comparables à ceux que nous venons de signaler pour le violet de méthyle et pour l'éosine. Son action sur la nutrition comme on va le voir est tout aussi manifeste que dans les cas précédents. Pour ce motif, nous le rangerons donc dans la catégorie des colorants actifs.

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE N° 56.

Lapin n° 56. — Le 23 janvier 1906.

Sondage à 3 h. 30.

Urée 8 gr. 5 p. 1000.

A 3 h. 40, injection de 1 cc. de neutralroth en solution dans du sérum physiologique.

A 4 h. Urines limpides la réaction du chromogène avec l'acide acétique et l'ébullition donne au liquide une coloration rose très nette..... Urée 3 gr. p. 1000.

A 4 h. 30 Urines rouges..... — 2 gr. p. 1000.

A 5 heures — — — 3 gr. p. 1000.

A 6 heures — moins colorées — 7 gr. p. 1000.

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 60.

Pratiquée sur notre camarade P. C., le 12 décembre 1906.

Miction à 8 h. 15.

Urée 21 gr. p. 1000.

A 8 h. 20, prise d'un cachet de neutralroth de 0,15 centigrammes.

Miction à 10 heures. Urines rouges. Urée 10 gr. p. 1000.

— 11 heures. — — 12 gr. p. 1000.

— Midi. — — 14 gr. p. 1000.

— 4 h. 20 de l'après-midi. Les urines sont toujours rouges.

L'élimination du colorant a cessé le lendemain matin vers huit heures ayant ainsi duré environ 24 heures.

Frappé par l'analogie de couleur qui existe entre les urines obtenues à la suite de l'ingestion de neutralroth par l'homme et celles émises dans les cas d'hématurie, nous avons pensé que ce colorant pourrait être employé pour simuler l'hématurie et nous avons immédiatement recherché une réaction qui permit de faire facilement un diagnostic différentiel. Nous avons constaté que si on acédifie fortement avec l'HCl, les urines contenant du rouge neutre, la coloration rouge passe au violet; rien de semblable ne se produit avec les urines contenant du sang.

Fuchsine. — Les opinions et les expériences sur la toxicité de la fuchsine sont rares et contradictoires. Les travaux de FLETZ et RITTER — cités par GEOFFROY (1887) p. 56 — concluent à une action toxique des plus accentuées (albuminurie, anasarque, mort), ceux de BERGERON et CLOUET (1876), au contraire, tendent à prouver l'innocuité absolue de ce colorant; PÉRIQUET, BOUCHUR, GRANDHOMME — cités par GEOFFROY (1887), p. 58, 59, 60 — abondent dans le même sens que ces derniers auteurs.

Nous ne saurions expliquer ces différences de vues ; nous nous contenterons d'exposer nos expériences et de conclure d'après nos propres résultats :

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE n° 58.

Lapin n° 34. — Le 16 février.

Sondage à 2 h. 45 de l'après-midi. Urée 8 gr. p. 1000.

Injection aussitôt de 1cc. d'une solution de fuchsine dans du sérum physiologique.

Sondage à 3 heures. Urines incolores. Urée 6 gr. p. 1000.

— 3 h. 45. Urines incolores.
léger chromo-
gène avec acide
acétique et ébul-
lition — 5 gr. 50 p. 1000.

— 3 h. 40. Urines légère-
ment rosées... — 6 gr. p. 1000.

— 4 heures. Urines légère-
ment rosées... — 7 gr. p. 1000.

— 4 h. 30. Urines légère-
ment rosées... — 6 gr. p. 1000.

— 5 h. 30. Urines légère-
ment rosées... — 5 gr. p. 1000.

— 6 heures. Chromogène par
acide acétique
et ébullition.
Urines incolores..... — 7 gr. 50 p. 1000.

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 64.

L'expérience est pratiquée sur notre camarade V., dans la matinée du 8 décembre 1906.

Miction à 8 heures.

Urée 21 gr. p. 1000.

Aussitôt, prise d'un cachet de fuchsine de 0 gr. 15 centigr.

Miction à 9 heures. Urines incolores.

Chromogène

rosé par acide

acétique et ébul-

lition..... Urée 20 gr. p. 1000.

— 10 heures. Urines rosées... — 19 gr. p. 1000.

— 11 heures. Urines rosées... — 21 gr. p. 1000.

— 1 heure. Urines rosées... — 18 gr. p. 1000.

— 5 heures. Urines rosées... — 20 gr. p. 1000.

Le lendemain matin, la teinte rosée des urines avait disparu et on n'y retrouvait plus aucun chromogène par les réactions habituelles.

A la suite de nos expériences avec la fuchsine, nous admettons qu'aux doses où nous l'avons employée, elle n'a aucune action sensible autant chez l'animal que chez l'homme.

Nigrosine.

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE N° 59.

Lapin n° 88. — Le 20 mars 1906.

Sondage à 3 heures de l'après-midi.

Urée 8 gr. p. 1000

Aussitôt injection de 1 cc. de nigrosine en solution dans du sérum physiologique.

Sondage à 3 h. 20.	Urines incolores.	Urée 8 gr. 5	p. 1000
— 3 h. 45.	—	— 7 gr.	p. 1000
— 4 h. 10.	—	— 6 gr. 5	p. 1000
— 4 h. 35.	—	— 8 gr.	p. 1000
— 5 h. 20.	—	— 6 gr.	p. 1000
— 6 h. 15.	—	— 7 gr.	p. 1000

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 68.

L'expérience est pratiquée dans la matinée du 6 décembre 1906 sur notre camarade B.

Miction à 8 heures du matin. Urée 19 gr. p. 1000

Aussitôt, prise d'un cachet de 0 gr. 15 centigr. de nigrosine.

Miction à 9 h. 15.	Urines incolores.	Urée 18 gr.	p. 1000
— 10 heures.	—	— 21 gr.	p. 1000
— 11 h. 30.	—	— 19 gr. 5	p. 1000
— 1 h. de l'après-midi.	—	— 20 gr.	p. 1000
— 3 heures	—	— 22 gr.	p. 1000
— 5 heures.	—	— 19 gr.	p. 1000

Bleu marine.

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE N° 72.

Lapin n° 98. — Le 15 novembre 1906.

Sondage à 8 heures. Urée 8 gr. p. 1000.

Injection aussitôt de 1 cc. de bleu marine en solution dans du sérum physiologique.

Sondage à 8 h. 30.	Urines incolores.	Urée 8 gr. 5	p. 1000
— 9 h. 05.	—	— 6 gr.	p. 1000
— 10 heures	—	— 7 gr.	p. 1000
— 11 heures	—	— 6 gr. 5	p. 1000
— midi	—	— 8 gr.	p. 1000

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 74.

L'expérience est pratiquée sur nous-même dans la matinée du 20 novembre 1906.

Miction à 8 h. 30.

Urée 18 gr. p. 1000.

Aussitôt prise d'un cachet de 0 gr. 15 centigr. de bleu marine.

Miction à 9 h. 10.

Urines incolores.

Urée 20 gr. p. 1000.

— 10 h. 15.

—

— 19 gr. p. 1000.

— 11 heures.

—

— 22 gr. p. 1000.

— midi.

—

— 20 gr. p. 1000.

Vert malachite.

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE N° 75.

Lapin n° 76. — Le 25 novembre 1906.

Sondage à 8 h. 30.

Urée 9 gr. p. 1000.

Aussitôt injection de 1 cc. d'une solution de vert malachite dans du sérum physiologique.

Sondage à 9 h. 05.

Urines incolores.

Urée 9 gr. p. 1000

— 9 h. 45.

—

— 7 gr. p. 1000

— 10 h. 05.

—

— 8 gr. p. 1000

— 11 heures.

—

— 8 gr. 5 p. 1000

— 11 h. 25.

—

— 7 gr. p. 1000

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 76.

L'expérience est pratiquée sur nous-même dans la matinée du même jour, le 25 novembre 1906.

Miction à 8 heures.

Urée 49 gr. par 1000.

Aussitôt, prise d'un cachet de 0 gr. 15 de vert malachite.

Miction à 8 h. 50.	Urines incolores.	Urée 21 gr. p. 1000.
— 9 h. 20.	—	— 48 gr. p. 1000.
— 10 h. 30.	—	— 20 gr. p. 1000.
— 11 h. 25.	—	— 19 g.5 p. 1000.

Les expériences pratiquées sur ces quatre derniers colorants montrent que la fuchsine, la nigrosine, le bleu marine, le vert malachite traversent l'organisme de l'homme et celui de l'animal sans apporter aucune modification dans les phénomènes de la nutrition. La fuchsine seule sur ces quatre matières colorantes passe dans les urines en nature et seule aussi présente un chromogène par l'acide acétique et l'ébullition, la même réaction appliquée à la nigrosine, le bleu marine, le vert malachite ne nous a donné aucun résultat pas plus d'ailleurs que l'emploi de l'eau oxygénée et de l'acide azotique.

CHAPITRE IV

Action physiologique de certains colorants d'origine végétale sur l'animal et sur l'homme.

Parmi les colorants de la série végétale, il en est peu dont l'action sur la matière vivante ait été longuement étudiée. Le fait de la coloration vitale des os est depuis longtemps signalé : FLOURENS, DUHAMEL, SERRES (1739) et avant eux les Chinois, nous dit-on, avaient noté cette particularité.

HECKEL (1875) effectua aussi des recherches sur l'imprégnation de la cellule vivante par certains colorants végétaux : la Garance, le Curcuma, le Campêche, le bois du Brésil. Il signale les colorations différentes que prennent les os mis en présence de ces différentes matières colorantes.

MER (1877), dans ses recherches sur l'escargot, montre la propriété que possède le carmin d'Indigo : de se fixer sur les cristalloïdes contenus dans les cellules rénales ainsi que sur les globules de nature protéique contenus dans les cellules hépatiques. Aucun de ces auteurs ne signale une action offensive de ces colorants, vis-à-vis de la matière vivante ; la cellule les prend et s'en débarrasse sans que son fonctionnement en paraisse troublé.

Nous avons effectué nos recherches avec le carmin d'Indigo,

la Garance, l'Hématoxyline, adoptant la même méthode que précédemment nous avons injecté ces colorants chez l'animal, nous les avons fait absorber par ingestion à l'homme,

Carmin d'Indigo.

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE N° 80.

Lapin n° 66. — Le 9 juin 1906.

Sondage à 9 h. 45.

Urée 7 gr. par 1000.

Aussitôt injection de 1cc. de carmin d'Indigo en solution dans du sérum physiologique.

Sondage à 10 heures.	Urines vert clair.	Urée 6 gr. p. 1000
— 10 h. 20	—	— 6 gr. p. 1000
— 10 h. 50	Urines vert très foncé	— 7 gr. p. 1000
— 11 h. 10	Urines bleues	— 6 gr. p. 1000
— Midi	—	— 8 gr. p. 1000

A cinq heures, dans la soirée, l'élimination du bleu durait encore. Le lendemain matin elle avait cessé. La présence du chromogène caractérisée par la teinte verdâtre du liquide et la couleur bleue des urines rappelle l'élimination du bleu de méthylène; mais nous avons constaté que chez l'homme il en est tout autrement et que tout le temps les urines s'écoulent incolores sans que les réactifs oxydants puissent y révéler la présence d'un leucodérivé.

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 81.

L'expérience est pratiquée sur M. J. G., le 29 novembre 1906.

Miction à 9 heures.

Urée 17 gr. p. 1000.

Aussitôt, prise d'un cachet de 15 gr. de carmin d'Indigo.

Miction à 9 h. 40.	Urines incolores.	Urée 16 gr. p. 1000.
— 10 heures.	—	— 19 gr. p. 1000.
— 10 h. 50.	—	— 20 gr. p. 1000.
— 11 h. 30.	—	— 18 gr. p. 1000.

Les urines recueillies dans l'après-midi ne sont pas colorées et ne présentent pas de chromogène par les réactions habituelles.

Garance.

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE N° 85.

Lapin n° 98. — Le 17 novembre 1906.

Sondage à 9 h. 30. Urée 7 g. 5 p. 1000.

Aussitôt, injection de 1 cc. d'une solution de garance dans du sérum physiologique.

Sondage à 9 h. 55.	Urines colorées en marron.	Urée 7 gr. p. 1000.
— 10 heures	—	— 9 gr. p. 1000.
— 10 h. 20.	—	— 8 gr. p. 1000.
— 11 h. 10.	—	— 8 g. 5 p. 1000.

L'élimination en nature du colorant a cessé vers six heures dans la soirée.

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 86.

L'expérience est pratiquée sur nous-même, dans la matinée du 17 novembre 1906.

Miction à 7 h. 45. Urée 15 gr.

Aussitôt, prise d'un cachet de poudre de garance de 0,15 cgr.

Miction à 8 h. 30.	Urines incolores.	Urée 14 gr. 5 p. 1000
— 9 h.	—	— 12 gr. p. 1000
— 10 h. 20.	—	— 14 gr. 5 p. 1000
— 11 h. 15.	—	— 15 gr. 5 p. 1000

Les recherches pratiquées pour déceler le chromogène restent sans résultat.

Hématoxyline.

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 89.

Lapin n° 66. — Le 31 mai 1906.

Sondage à 9 h. 15. Urée 5 gr. p. 1000.

Aussitôt injection de 1 cc. d'une solution d'hématoxyline dans du sérum physiologique.

Sondage à 9 h. 40.	Urines de couleur rosée.	Urée 4 gr. 5 p. 1000
— 9 h. 50.	Urines de coloration rouge vineux.....	— 5 gr. p. 1000
— 10 h.	Urines de coloration rouge vineux.....	— 6 gr. p. 1000
— 10 h. 30.	Urines de coloration rouge vineux intense	— 4 gr. 5 p. 1000
— 11 h.	Même coloration.....	— 4 gr. p. 1000

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 90.

L'expérience a été pratiquée sur nous-même dans la matinée du 21 juin 1906.

Miction à 8 heures. Urée 18 gr. p. 1000.

Aussitôt, prise d'un cachet d'hématoxyline de 0,15 cgr.

Miction à 9 h. 5.	Urines incolores.	Urée 20 gr. p. 1000.
— 10 heures.	—	— 19 gr. p. 1000.
— 10 h. 40.	—	— 17 gr. p. 1000.
— 11 h. 50.	—	— 18 gr. p. 1000.

Au cours de cette expérience nous avons pratiqué la recherche du chromogène, ce que nous avons fait chaque fois que nous avons vu passer les urines incolores. Dans le cas particulier à l'hématoxyline, alors que les urines passaient incolores chez l'homme, nous avons obtenu la production d'un leucodérivé par la réaction suivante : on mélange dans un tube à essai 3 volumes d'urine, 2 volumes d'eau oxygénée et 1 volume d'acide azotique, aussitôt apparaît au sein du liquide une coloration violacée qui caractérise le colorant. Cette réaction reste positive 6 à 8 heures encore après l'ingestion du colorant.

Ces faits déjà en partie publiés — J. GAUTRELET et E. BERNARD (1906) — J. GAUTRELET et H. GRAVELLAT (1906)^d — nous permettent de tirer plusieurs conclusions.

Au point de vue de l'action physiologique, certains colorants sont actifs (bleu de méthylène, violet de méthyle éosine, neutralroth); d'autres sont inactifs (nigrosine, fuchsine, bleu marine, vert malachite). Les uns sont capables d'imprimer des modifications aux manifestations normales de la vie, les autres passent à travers l'organisme sans provoquer de semblables actions.

Au point de vue de leur élimination urinaire, les uns passent en nature dans les urines (bleu de méthylène, éosine, neutralroth, fuchsine chez l'homme et chez l'animal : garance, carmin d'Indigo, hématoxyline chez le lapin), d'autres sous forme de leucodérivés (hématoxyline); d'autres s'éliminent sous ces deux états (bleu de méthylène, fuchsine chez l'homme et chez l'animal, carmin d'Indigo chez le lapin); d'autres enfin ne sont pas décelables même par des réactions énergiques (nigrosine, bleu marine, vert malachite).

Si, maintenant, nous cherchons à faire un rapprochement

entre les faits constatés dans nos expériences et ceux étudiés dans notre premier chapitre, nous constatons que l'action des différentes matières colorantes est absolument comparable dans les deux cas. Les colorants qui compromettent la vitalité de la cellule vivante sont ceux qui apportent des modifications vitales dans l'organisme de l'animal ou de l'homme ; ceux qui laissent indemne la cellule vivante sont ceux que l'organisme élimine sans fournir de manifestations anormales. Ces faits, *à priori*, étaient à prévoir, il était peut-être bon de les établir car ils fournissent matière à un intéressant rapprochement.

CHAPITRE V

De la transformation par l'organisme des matières colorantes ne passant pas dans les urines soit en nature, soit sous forme de leucodérivés.

On a pu constater dans les chapitres précédents que certaines matières colorantes injectées ou ingérées ne se retrouvaient pas dans les urines soit en nature, soit sous forme de leucodérivés. En effet, le bleu de méthylène, l'éosine, le rouge neutre, l'hématoxyline ont toujours passé dans les urines sous l'un de ces deux états ; le bleu marine, la nigrosine, le vert malachite, au contraire, laissaient les urines incolores et ne pouvaient être décelés même par les réactifs les plus oxydants (acide acétique et chaleur, acide azotique fumant, eau oxygénée).

Il y avait là un fait qui méritait d'attirer notre attention et de provoquer nos recherches. Guidé par les travaux de certains auteurs, de SCHMIEDEBERG (1895) en particulier, nous avons entrepris une série d'expériences afin de connaître la façon dont l'organisme se débarrassait des colorants qu'il ne rendait pas en nature ou à l'état de chromogènes.

En étudiant la constitution chimique des couleurs d'aniline

et des colorants végétaux (ceux tout au moins dont la formule est connue d'une façon précise), nous avons constaté que toutes possédaient un noyau aromatique. D'autre part, la physiologie nous enseigne que l'organisme réserve un sort tout spécial aux substances aromatiques qui prennent naissance dans l'intestin notamment, aux dépens des matières albuminoïdes. On sait, en effet, qu'après un cycle dont les stades sont bien déterminés, ces substances donnent naissance à des sulfo-conjugués. A l'état normal, il n'en existe que des traces dans l'urine, mais l'ingestion de phénol, benzol, indol, tyrosine en augmente la quantité (VIAULT et JOLYET, **1904**); les injections sous-cutanées d'indol élèvent le taux de l'indican urinaire (A. GAUTIER, **1897**). Ces corps de la série aromatique sont de différente nature. Ce sont des dérivés du phénol et du crésol, les acides phénolsulfurique et crésolsulfurique, découverts par BAUMANN en 1876; plus abondants chez les herbivores que chez les carnivores, ce sont aussi les acides indoxylsulfurique et scatoxylsulfurique dérivés de l'indol et du scatol (A. GAUTIER, **1897**). Ces acides sulfo-conjugués donnent, par leur combinaison avec les bases, naissance à des dérivés que l'on retrouve dans l'urine. Ce sont le phénylsulfate de potassium, le crésylsulfate de potassium, l'indoxylsulfate de potassium, le scatoxylsulfate de potassium; ces deux derniers dénommés plus couramment indican et scatol.

A la suite de ces constatations, nous nous sommes demandé si nos substances colorantes ne passant pas par les urines subissaient les mêmes transformations que ces corps de la série aromatique avec lesquels ils présentaient une certaine analogie de constitution.

Cette hypothèse était en partie confirmée par les expériences de SCHMIEDEBERG (**1895**), qui a démontré que l'aniline n'était pas toxique tant qu'elle donnait naissance à des sulfo-conjugués. C'était là, en effet, une première indication sur la façon dont l'organisme pouvait se comporter vis-à-vis des colorants qui nous occupent dans ce chapitre.

Nos expériences ont porté sur l'animal et sur l'homme et ont été faites tant avec des colorants d'origine végétale qu'avec des colorants d'aniline.

Nous nous sommes servi pour la recherche des sulfo-conjugués des réactions indiquées par DENIGÈS (1898) dans son précis de Chimie analytique (p. 735). La première qui convient à l'Indican et à son homologue supérieur le scatol ou méthylindol, repose sur les propriétés spéciales présentées par ces corps. Ils sont, en effet, facilement décomposés par fixation d'eau et grâce à leur radical cyclique, ils donnent naissance à des matières colorantes bien qu'incolores eux-mêmes, se comportant ainsi à la façon de véritables chromogènes. Comme agent d'hydrolyse, on emploie HCL concentré, comme réactif pour donner naissance à la matière colorante, on se sert d'une solution d'hypochlorite alcalin ou alcalino-terreux. Voici la technique que nous avons suivie pour produire cette réaction. On met dans un tube 2 cc. d'urine environ, on chauffe vers 40° ou 50°, on ajoute 2 à 4 gouttes d'eau oxygénée titrant 8 à 10 volumes, 2 cc. de chloroforme et 3 à 4 cc. d'acide chlorhydrique pur, concentré. On bouche l'orifice du tube avec la pulpe du pouce et on le retourne une vingtaine de fois sur lui-même autant que possible sans émulsionner le chloroforme. Quand il y a peu ou pas d'indican, le dissolvant est à peine teinté en bleu (c'est le cas normal), au contraire le chloroforme se colore d'une façon d'autant plus intense qu'il y a plus d'indican. Dans les conditions où l'indican donne de l'indigotine, le méthyl-indican ou scatol donne un colorant rouge insoluble dans le chloroforme et restant dissous dans la couche aqueuse acide située au-dessus du chloroforme. (DENIGÈS 1898, p. 736.)

A côté de l'indican et du scatol, nous avons signalé qu'il pouvait se former d'autres corps de la série aromatique : les phénylsulfates et les crésylsulfates. Pour leur recherche, nous avons employé la réaction suivante : après avoir distillé au 3/4 l'urine acidulée de 10 0/0 d'HCl, nous avons recherché les mono-phénols dans le distillat par l'eau bromée ou le réac-

tif de Millon. (DENIGÈS 1898. p. 737.) Nous devons dire dès maintenant, qu'en aucun cas, cette dernière réaction ne nous a fourni des résultats suffisamment nets pour que nous puissions affirmer la présence dans les urines de dérivés sulfo-conjugués, ayant les caractères des mono-phénols.

Nous allons maintenant citer quatre expériences dont deux ont été pratiquées sur le lapin à la suite d'injections de bleu marine et de nigrosine et deux sur l'homme à la suite d'ingestion de bleu marine et de carmin d'Indigo.

Recherches chez l'animal.

EXPÉRIENCE N° 92.

Lapin n° 35. — Le 12 décembre 1906.

A 8 h. On pratique dans les urines retirées par la sonde la recherche des sulfo-conjugués; l'HCl seul prend une teinte très légèrement rougeâtre.

A 8 h. 10. Injection de 1 cc. d'une solution de bleu marine.

A 8 h. 30. Réaction des sulfo-conjugués. Rien de bien caractéristique.

A 8 h. 45. On pratique la même recherche. Le chloroforme situé à la partie inférieure du tube prend une teinte bleuâtre.

A 9 h. 15. La teinte bleue du chloroforme s'est accentuée.

A 10 h. Même résultat.

A 11 h. Même résultat.

EXPÉRIENCE N° 95.

Lapin n° 98. — Le 13 décembre 1906.

A 9 h. du matin. On pratique dans les urines la réaction des sulfo-conjugués.

A 9 h. 5. Injection de 1 cc. de nigrosine.

A 9 h. 20. La réaction des sulfo-conjugués ne donne rien de bien caractéristique.

A 9 h. 45. La même réaction fait apparaître au sein du chloroforme une coloration bleue. L'HCl. est légèrement rouge.

A 10 h. 30. La teinte bleue du chloroforme est plus intense.

A 11 heures. Même résultat.

A midi. Même résultat.

Recherches chez l'homme.

EXPÉRIENCE N° 98, pratiquée sur notre camarade H. L., le 12 décembre 1906.

A 8 heures. Recherche de l'indican et du scatol dans les urines. Traces très légères de ces deux corps.

A 8 h. 05. Prise d'un cachet de 15 centigrammes de bleu marine.

A 9 heures. La même réaction indique nettement dans le chloroforme la présence d'indican. Le scatol n'est pas augmenté.

A 10 h. Le chloroforme a une teinte bleue très nette.

A 11 heures. Même résultat.

EXPÉRIENCE N° 100, pratiquée sur notre camarade B.

A 8 heures. Recherche de l'indican et du scatol dans les urines. Très peu d'indican. Très peu de scatol.

A 8 h. 05. Prise d'un cachet de 15 centigrammes de carmin d'Indigo.

A 9 heures. La réaction des sulfo-conjugués est positive surtout par la teinte bleue du chloroforme. La coloration rougeâtre de l'HCl est très peu accentuée.

A 10 heures. Teinte très foncée du chloroforme.

A 11 heures. Le chloroforme est encore teinté au bleu mais avec moins d'intensité.

A midi. Même résultat.

Nous n'avons parlé au cours de nos expériences que de la réaction propre à l'indican et au scatol. Nous nous sommes abstenus de citer celle des phénylsulfates et crésylsulfates parce que, comme nous l'avons déjà dit, elle ne nous a pas

donné de résultats assez nets pour que nous puissions en tenir compte.

Nous devons dire aussi que sur les animaux qui ont servi à cette série d'expériences, ainsi que sur l'homme, nous avons précédemment exécuté des recherches pour savoir si, dans la matinée, toujours placés dans les mêmes conditions alimentaires, c'est-à-dire à jeun, nos sujets ne présentaient pas dans l'élimination des sulfo-conjugés des variations susceptibles d'être comparées à celles que nous venons d'indiquer. La réaction appropriée, pratiquée le plus souvent possible, nous a montré que ces corps s'éliminaient en très petite quantité et avec des variations infimes pendant les heures correspondantes.

Une objection qui pourrait nous être posée à propos des expériences pratiquées, soit avec le bleu marine, soit avec le carmin d'indigo, est la suivante : le chromogène de ces corps ne pourrait-il pas donner naissance à cette coloration bleue du chloroforme ? Les recherches que nous avons pratiquées depuis longtemps, par les réactifs oxydants — acide acétique, ébullition, eau oxygénée, acide azotique fumant — dans le but de mettre en évidence leur leucodérivé, nous indiquaient déjà que nous n'avions pas affaire à du chromogène.

Pour rendre notre certitude plus complète, nous avons adapté à notre cas la réaction suivante signalée par DENIGÈS : On sait, dit cet auteur, que les urines de sujets soumis à un traitement ioduré donnent dans les mêmes conditions (avec la réaction de l'indican) une coloration rouge violacé au chloroforme ; un cristal d'hyposulfite de soude ajouté au mélange, fait disparaître la teinte due à l'iode sans toucher à l'indigotine. (DENIGÈS, 1898, p. 736.)

Mettant à profit cette stabilité de la coloration due à l'indican en présence de l'hyposulfite, nous avons recherché de quelle façon se comportait les chromogènes du bleu de méthylène, du carmin d'indigo (chez le lapin) et nous avons constaté que la teinte verdâtre disparaissait ou s'atténuait dans de notables proportions. Appliquant ces données à nos

expériences, nous avons constaté que jamais la teinte bleue du chloroforme n'a changé en présence d'un cristal d'hyposulfite de soude.

A la suite de ces recherches déjà publiées, GAUTRELET-J. et GRAVELLAT H. (1907)^a, qui confirment l'hypothèse que nous avons émise au début de ce chapitre, nous pouvons conclure que l'organisme est capable de transformer certains colorants d'une façon complète et définitive en dérivés sulfo-conjugés analogues à l'indican. Il imprime, dans ce cas, à la formule du colorant un remaniement bien plus complexe que ne l'est sa transformation en chromogène, simple phénomène de réduction.

CHAPITRE VI

Rôle du foie dans la transformation par l'organisme des matières colorantes ne passant pas dans les urines, soit en nature, soit sous forme de leucodérivés.

Nous venons d'exposer dans le chapitre précédent que les matières colorantes que nous ne retrouvions pas dans les urines, soit sous leur forme naturelle, soit sous la forme de leucodérivés se transformaient en substances analogues à certains corps sulfo-conjugés et qu'on les révélait par les réactions habituelles à ces corps de la série aromatique éliminés par l'organisme.

Nous avons pensé que, grâce à leur analogie chimique avec les substances qui donnent naissance à ces sulfo-conjugés, on pouvait leur appliquer le cycle général de transformations propres aux phénols, à la tyrosine, au benzol, à l'indol, au scatol. Rappelons, en quelques mots, les différentes étapes accomplies par ces derniers composés avant de passer dans les urines sous la forme de sulfo-conjugés : ils prennent naissance pour la plupart dans l'intestin, passent dans le sang où ils s'oxydent, arrivent au foie où ils se combinent au soufre organique, formant alors des acides (acides indoxylsulfurique,

scatoxylsulfurique) ; ces acides se combinent ensuite aux bases, la potasse généralement, donnant naissance aux sels (indoxylsulfate de potasse, scatoxylsulfate de potasse) que l'on retrouve dans l'urine.

Pour savoir si les sulfo-conjugués obtenus à la suite d'ingestions ou d'injections de colorants étaient bien la résultante des mêmes processus de transformation que ceux qui donnent naissance aux sulfo-conjugués normaux, un seul moyen physiologique s'offrait à nous : c'était d'interrompre la série des actions chimiques que nous venons de signaler. Nous avons pensé que la suppression du foie nous mettrait dans les conditions voulues pour élucider la question.

On sait que si chez les vertébrés inférieurs une opération de cette nature ne compromet pas immédiatement leur vitalité, batraciens, SHRODER (1890), poissons, J. GAUTRELET (1903), il n'en est plus de même chez les mammifères où une survie de longue durée n'est possible qu'avec la fistule d'Eck. HAHN, MASSEN, NENCKI, PAWLOF (1892), cités par RICHET (1904), tome IX, p. 710.

Malgré cette grave difficulté, nous avons toujours obtenu dans nos expériences une survie suffisamment longue (6 heures environ) pour recueillir l'urine nécessaire à nos recherches.

Nous allons exposer la marche d'une de nos expériences prise sur les cinq que nous avons pratiquées dans le même but.

EXPÉRIENCE N° 125. Lapin n° 45.

Le 14 décembre 1906.

A 10 heures du matin, injection sous cutanée de 1 cc. de bleu marine en solution dans du sérum physiologique.

A 10 h. 30. Nous pratiquons dans l'urine la recherche des sulfo-conjugués, les réactions de l'indican et du scatol sont positives.

Nous pratiquons alors une laparatomie haute. Après avoir repéré le pédicule hépatique, nous le saisissons dans une pince à forciprèssure,

nous enlevons ensuite au thermocautère le plus possible de substance hépatique. Nous refermons avec des pinces la paroi abdominale.

A 10 h. 40, aussitôt après l'opération, la réaction des sulfo-conjugués est encore positive.

A 11 h. 20, on recueille quelques gouttes d'urines sur lesquelles nous pratiquons la réaction du chromogène par l'acide acétique et l'ébullition. Une teinte franchement verte apparaît dans le liquide.

A 11 h. 30, même résultat.

A 11 h. 45, même résultat.

L'animal meurt vers quatre heures de l'après-midi, sans que nous ayons pu nous procurer à nouveau des urines.

Avec le vert malachite, les résultats sont entièrement comparables : quelques instants après l'opération, nous avons une coloration verdâtre des urines.

Ces résultats, déjà publiés — GAUTRELET J. et GRAVELLAT H. (1907)¹, — nous montrent que l'organisme fait subir à certains colorants, des modifications analogues à celles qu'il imprime aux substances aromatiques que lui fournit l'intestin. Nous constatons, en outre, le rôle capital du foie dans cette transformation. Ces faits mettent une fois de plus en relief le rôle de protection important que joue cette glande vis-à-vis de l'organisme en adaptant toutes ses ressources à la désorganisation des éléments étrangers afin de diminuer le plus possible leur toxicité; parfois elle est impuissante, c'est ce que montrent nos recherches sur les colorants actifs, parfois, au contraire, elle atteint son but, c'est ce que prouvent ces derniers résultats.

CONCLUSIONS

Les conclusions que nous pouvons tirer des recherches expérimentales que nous avons effectuées, sont les suivantes :

A) 1° — Les couleurs d'aniline, dont nous avons fait l'étude à la dose de cinq centigrammes chez le lapin et de cinq, quinze, trente centigrammes chez l'homme, peuvent se diviser au point de vue physiologique en :

Colorants actifs.

Colorants inactifs.

2° — Les colorants actifs, tel et surtout le bleu de méthylène que nous avons pris comme type, mais également le violet de méthyle, l'éosine, le neutralroth manifestent leur activité :

- a) Sur la nutrition : en ralentissant les échanges dans l'intimité des tissus, (abaissement considérable de l'azote total.)
- b) Sur le rein : en diminuant pour une part son activité sécrétoire.
- c) Sur le foie : diminution de la fonction uréopoiétique (légère ammoniurie consécutive) et de la fonction glycogénique.

3° — Les colorants inactifs tels : le bleu marine, le vert malachite, traversent l'organisme sans produire de modifications fonctionnelles analogues ;

4° — Les colorants végétaux : tels le carmin d'indigo, la garance, l'hématoxyline, sont inactifs ;

B) 5° — Au point de vue de l'élimination urinaire :

A) Certains des colorants étudiés passent dans les urines en nature, bleu de méthylène, éosine, neutralroth, fuchsine, ou sous forme de chromogène, bleu de méthylène, hématoxyline, neutralroth, fuchsine.

B) D'autres ne passent pas dans les urines sous les formes précitées (vert malachite, bleu marine) ; l'emploi des réactifs propres aux leucodérivés est négatif.

6° — La transformation en leucodérivés est un fait de simple réduction mode d'activité générale des tissus.

7° — La présence de sulfo-conjugués analogues à l'indican est constante dans les urines de l'animal ou de l'homme après injection ou ingestion de colorants ne passant pas dans l'urine, soit en nature, soit sous forme de chromogène.

8° — L'ablation du foie chez l'animal, fait apparaître le chromogène dans les urines où il n'était pas décelable auparavant. Normalement le foie transforme donc d'une façon radicale les matières colorantes d'aniline, ne passant pas dans les urines, soit en nature, soit sous formes de leucodérivés, en remaniant complètement leur formule et en les transformant en corps sulfo-conjugués.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,

F. JOLYET.

Vu : *Le Doyen,*

A. PITRES.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 9 janvier 1906.

Le Recteur de l'Académie,

R. THAMIN.

OUVRAGES CONSULTÉS

- 1897.** ACHARD et CASTAIGNE. — Sur l'élimination du bleu de méthylène. *Soc. de médecine des hôpitaux*, p. 1128 à 1138.
- 1897.** ACHARD et CASTAIGNE. — Décoloration du bleu de méthylène par les éléments vivants. *C. R. Soc. Biol.*, 18 décembre, p. 1091 à 1092, t. IX, N° 40.
- 1898.** ACHARD et CASTAIGNE. — Sur les rapports de la réaction de l'urine avec l'élimination du bleu de méthylène. *C. R. Soc. Biol.*, 23 avril, p. 450 à 451.
- 1900.** ACHARD et CLERC. — L'élimination des doses répétées du bleu de méthylène. *Bull. et Mém. de la Soc. Médicale des hôpitaux*, 30 mars, p. 405.
- 1899.** ACHARD ET DELAMARRE. — L'exploration clinique des fonctions rénales par la glycosurie phloridzique. *Bull. et Mém. de la Soc. Médicale des hôpitaux*, p. 379.
- 1904.** ACHARD ET PAISSEAU. — Élimination comparée du bleu de méthylène et de l'urée. *C. R. Soc. Biol.*, 28 mai, p. 894 à 895, t. LII.
- 1905.** ALBARRAN. — Exploration des fonctions rénales. Étude médico-chirurgicale. Masson, Paris.
- 1899.** ALBARRAN et BERNARD. — La perméabilité rénale étudiée par le procédé du bleu de méthylène. *Annales des maladies génito-urinaires*. Avril-Mai, p. 335 à 369.
- 1892.** ALTHEN. — De l'emploi du bleu de méthylène dans les affections tuberculeuses. In nouveaux remèdes, p. 201.

- 1897-98. ARCHINKOFF. — Contribution à l'étude thérapeutique du bleu de méthylène. Thèse Montpellier.
1903. ARNOZAN. — Précis de thérapeutique (2^e édit.) p. 369 à 372, t. I.
1901. BARBERA. — Sur la prétendue action cholagogue du violet de méthyle. *Arch. Italiennes de Biologie*, p. 484, t. XXXV.
1898. BARJON. — Voir Linossier.
1905. BEAUFILS et LANGLOIS. — Effets des peintures murales sur les microbes. C. R. Soc. Biol., 18 février, p. 297.
1904. De BECHI et ROUX. — Article matières colorantes. In supplément du Dictionnaire de Chimie pure et appliquée, de Ad. Wurst, p. 1280 à 1365.
1876. BERGERON et CLOUET. — Note sur l'innocuité absolue des mélanges à base de fuchsine pure. (3^e édition), Rouen, 1876.
1899. BERNARD. — Voir Albarran.
1906. BERNARD (E.) — Voir Gautrelet-J.
1901. BETLINGK. — Rapports quantitatifs de quelques matières azotées de l'urine chez les animaux en inanition. Thèse Pétersbourg. *Analyse in Journal de Physiologie et de Pathologie* de Bouchard, p. 829.
1889. BINET. — Recherches physiologiques sur quelques anilides (formanilide, méthylformanilide méthylacétanilide). *Revue médicale de la Suisse Romane*. Genève.
1899. BODONI. — Sur le passage du bleu de méthylène dans diverses formes de psychoses. *Archives Italiennes de Biologie*, p. 321, t. XXXI.
1896. BOLLES-LEE et HENNEGUY. — Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique (2^e édition), p. 92 à p. 161.
1901. BOHN. — L'évolution du pigment. Collection Scientia, p. 68 à 74.
- 1896-97. BOURG. — Le Bleu de méthylène pour le diagnostic de la perméabilité rénale. Thèse Paris.
1896. BREMER. — On improved method of diagnosing diabete from a drop of blood. *New-York, medical Jour.* (March 7)
1894. BRONOWSKI. — Le bleu de méthylène dans la tuberculose (action antipyrétique et antisudorale). In *Gazetta Lekarska*, n° 13.

1902. CARNOT. — Voir Gilbert.
1897. CASTAIGNE. — Voir Achard.
1898. — — —
- 1899-1900. — — — Epreuve du bleu de méthylène et de la perméabilité rénale. Thèse Paris.
1896. CAVAZZANI. — Sur une aptitude spéciale du foie à retenir le violet de méthyle. *Arch. Italiennes de Biologie*, p. 27 à p. 32. T. XXVI.
1897. CAVAZZANI. — Action du curare, de l'atropine, du violet de méthyle sur la thermogenèse et la glycogenèse hépatique. *Arch. Italiennes de Biologie*, p. 284. T. XXVIII.
1893. CAZENEUVE. — Répertoire des matières colorantes artificielles. Masson. Paris
1881. CERTES. — Sur un procédé de coloration des infusoires et des éléments anatomiques pendant la vie. C. R. Soc. Biol., 21 janvier 1881. Soc. Zoologique de France, 25 juil. 1881.
- 1903-04. CHANCEL. — Étude clinique et expérimentale de l'action du bleu de méthylène comme antituberculeux. Thèse, Lille.
1898. CHIMKIEVITCH. — Sur quelques applications de la coloration par le bleu de méthylène. Troud. St-Petersbourg. Obch-tch XXIX (en russe) analyse de Goldsmith, in *Ann. Biologique*, 1898.
1902. CHARRIN. — L'Insuffisance hépatique. Congrès français de médecine de Toulouse, 1902, p. 35 à p. 140.
1903. CHAUFFARD. — Pathologie générale et séméiologie du foie. In pathologie générale de Bouchard, t. V, p. 1 à p. 95.
1901. CHALEIX-VIVIE. — Action bactéricide du bleu de méthylène sur le gonocoque. C. R. S. Biol. p. 323.
1902. CLAUDE et MAUTÉ. — La chlorurie alimentaire expérimentale dans les néphrites. Soc. médicale des hôpitaux, mai 1902, et *Archives générales de médecine*, août 1902.
1900. CLERC. — Voir Achard.
1876. CLOUET. — Voir Bergeron.
1891. COMBEMALE. — Recherches expérimentales et cliniques sur le bleu de méthylène. *Bulletin général de thérapeutique*, p. 337 à p. 372, avril 1891.

1891. COMBEMALE. — De l'action méthémoglobinisante du bleu de méthylène. C. R. Soc. biol., p. 300 à p. 302, mai 1891.
1890. COMBEMALE et FRANÇOIS. — Recherches sur les propriétés physiologiques et thérapeutiques du bleu de méthylène. C. R. Soc. biol., p. 468 à 470, juillet 1890.
1905. LE DANTEC. — Précis de pathologie exotique, p. 1018. Collection Testut. Doin, Paris.
- 1903-04. DARGEIN. — Traitement des kératites, par les injections sous-conjonctivales de bleu de méthylène et de bi-iodure de mercure. Thèse, Lyon.
- 1890-91. DAUPHANT. — De la valeur du bleu de méthylène comme médicament analgésique. Thèse, Lyon.
1898. DENIGÈS. — Précis de chimie analytique. Stork, Lyon.
- 1896-97. DERIAUD. — Le bleu de méthylène pour le diagnostic de la perméabilité rénale dans l'albuminurie. Thèse, Paris.
1899. DÉVOTO. — Fonction rénale et perméabilité rénale étudiée avec le bleu de méthylène. In extenso. In *Gazetta Degli Ospedali*, p. 429. Résumé In *Archives italiennes de biologie*, p. 321, t. XXXI.
1903. DONATI. — Sur les globules rouges du sang humain, colorables à frais avec le bleu de méthylène. *Giornale italiano delle scienze medische*, n° 11-12, 1903. Résumé In *Archives italiennes de biologie*, 1904, t. XLII.
- 1894-95. DOMEQ. — Epithélioma cutané du nez et des paupières, traité par le bleu de méthylène combiné à l'acide chronique et au galvano-cautère. Thèse, Paris.
- 1900-01. DREMONT. — Du traitement des différentes formes de paludisme et en particulier de la forme bilieuse hémoglobinurique par le bleu de méthylène. Thèse, Paris.
1898. DREYFUS. — Contribution à l'étude de la perméabilité rénale. Thèse, Lyon.
1905. DUCROT. — Etude sur le rôle sécrétoire du liquide céphalo-rachidien, par les plexus choroïdes. Thèse, Bordeaux.
1739. DUHAMEL. — De la coloration des os par ingestion de garance. *Mémoires de l'Académie des sciences*, Paris.
1891. EGASSE. — Les couleurs d'aniline, *Bulletin général de thérapeutique*, p. 393 à p. 527.

1897. ENGEL et MOITESSIER. — Chimie biologique, p. 135. Bayer, Paris.
1886. ERLICH. — Ueber die methylenblau Reaction den lebenden Nervensubstanz. *Deutz. med. Woch.*, 1886, n° 4.
1890. ERLICH et LEPPMANN. — Le bleu de méthylène agent analgésique. *Deutz. med. Woch.*, juillet 1890, n° 23 et In *Gazette médicale de Paris*, p. 283.
1901. FERRANINI. — A propos de la perméabilité rénale expérimentée avec le bleu de méthylène. *Arch. italiennes de biologie*, t. XXXV.
1894. FIEUX et LUGEOL. — De l'emploi du bleu de méthylène en obstétrique et en gynécologie. *Mém. et Bull. Soc. de méd. et de chirurg. de Bordeaux*, p. 604.
1739. FLOURENS. — Coloration des os par la garance *Annales des sciences naturelles*, 2^e série, t. XIII, p. 97.
1890. FRANÇOIS. — Voir Combemale.
1891. GAILLARD. — Du bleu de méthylène et de ses propriétés analgésiques. C. R. Soc. de médecine des hôpitaux.
1894. GALEOTTI. — Ricerche nella colorabilita delle cellule vivente. *Zeit f. wiss. mikros.* Vol. II, p. 172.
- 1903-04. GARGAUD. — Du traitement des syphilides muqueuses secondaires par le bleu de méthylène. Thèse Paris.
1904. GARNIER. — Recherches histo-physiologiques sur l'élimination du bleu de méthylène par le rein. *Bull. Soc. anatomique*, p. 772.
1887. GAUTIER (A). — Cours de chimie, deuxième édition, p. 539 à 544. Masson. Paris.
1897. GAUTIER. — Chimie biologique, p. 608 et p. 253. Masson. Paris.
1903. GAUTRELET (J.). — Les pigments respiratoires et leurs rapports avec l'alcalinité apparente du milieu intérieur. Thèse de sciences. Paris.
1905. GAUTRELET (J.) et DUCROT (R.). — Le liquide céphalo-rachidien au cours de l'ictère expérimental. C. R. Soc. Biol. 10 janvier.
1905. GAUTRELET (J.) et DUCROT (R.). — Présence de pigments bili-

aires dans le liquide céphalo-rachidien après suppression physiologique des plexus choroïdes. C. R. Soc. Biol. 10 Janvier.

1905. GAUTRELET (J.) et BERNARD (E.). — Des différentes actions physiologiques des couleurs d'aniline. C. R. Soc. Biol. Juin 1905, p. 1095-1096.

1905 a). GAUTRELET (J.) et GRAVELLAT (H.). — De l'élimination de l'urée chez le lapin normal sous l'influence des injections de bleu de méthylène. C. R. Soc. Biol., 9 décembre 1905, p. 624 à 625.

1905 b). GAUTRELET (J.) et GRAVELLAT (H.). — De l'élimination de l'urée chez le lapin en inanition sous l'influence des injections sous-cutanées de bleu de méthylène. C. R. Soc. Biol., 9 décembre 1905, p. 626 à 628.

1906 a). GAUTRELET (J.) et GRAVELLAT (H.). — Action des injections sous-cutanées concentrées de bleu de méthylène sur l'élimination urinaire chez le lapin. C. R. Soc. Biol. 23 mars 1906, p. 550.

1906 b). GAUTRELET (J.) et GRAVELLAT (H.). — Action des injections sous-cutanées de bleu de méthylène sur les fonctions hépatiques. C. R. Soc. Biol. 23 mars 1906, p. 551.

1906 c). GAUTRELET (J.) et GRAVELLAT (H.). — Mécanisme de l'abaissement de l'azote urinaire consécutif aux injections de bleu de méthylène (action sur le rein, action sur la nutrition). C. R. Soc. Biol. 23 mars 1906, p. 552.

1906 d) GAUTRELET (J.) et GRAVELLAT (H.). — De l'action physiologique de quelques couleurs d'origine végétale. C. R. Soc. Biol. 21 juillet 1906, p. 134-135.

1907 a). GAUTRELET (J.) et GRAVELLAT (H.). — De la transformation par l'organisme des matières colorantes ne passant pas dans les urines soit en nature, soit sous forme de leucodérivés. C. R. Soc. Biol. janvier 1907.

1907 b). GAUTRELET (J.) et GRAVELLAT (H.). — Rôle du foie dans la transformation par l'organisme des matières colorantes ne passant pas dans les urines soit en nature, soit sous forme de leucodérivés. C. R. Soc. Biol. janvier 1907.

- 1906.** GAUTRELET (J.) et MALLIÉ (H.). — Action des injections sous-cutanées de fluorure de sodium sur les fonctions hépatiques de l'animal. C. R. Soc. Biol. 7 avril 1906, p. 714 à 715.
- 1887.** GEOFFROY. — Aniline et fuchsine. Thèse pharmacie. Montpellier.
- 1898-99.** GIBERT. — Recherches de l'état fonctionnel du rein au moyen des injections de bleu de méthylène. Thèse Montpellier.
- 1902.** GILBERT et CARNOT. — Des fonctions hépatiques, p. 259. Naud. Paris.
- 1902.** GILBERT et WEIL. — Rôle du foie dans l'indicanurie. In Gilbert et Carnot. p. 256.
- 1892.** GIRARD et PABST. — Article matières colorantes. In encyclopédie chimique de Fremy. Dunod, Paris.
- 1895.** GLEY et PACHON. — Action des injections intraveineuses de peptone sur la fonction anticoagulante du foie. C. R. Soc. Biol. 20 août 1895, p. 74.
- 1898.** GOIN. — Elimination du bleu dans l'éclampsie. Thèse, Paris.
- 1903.** GOUGET. — De l'élimination provoquée comme méthode de diagnostic. In traité de pathologie générale de Bouchard, t. VI, de p. 707 à p. 725.
- 1863.** GRAEBE et LIEBERMANN. — Dict. Chem. Gen. p. 106, t. I.
- 1902-03.** GRANIER. — Le diagnostic de l'abondance des épanchements pleuraux. Evaluation quantitative des épanchements pleuraux par le bleu de méthylène. Thèse, Paris.
- 1905.** GRAVELLAT (H.). — Voir Gautrelet (J.).
- 1906.** GRAVELLAT (H.). — Voir Gautrelet (J.).
- 1907.** GRAVELLAT (H.). — Voir Gautrelet (J.).
- 1897-98.** GUENARD. — Etude de la perméabilité rénale chez les éclampsiques par le procédé du bleu de méthylène. Thèse, Paris.
- 1906.** GUICHARD. — Voir Villon.
- 1897.** HAUSER. — Voir Voisin.
- 1875.** HECKEL. — Phénomènes de localisation dans les tissus animaux. *Journal de l'anat. et de la physiol.*, t. II, p. 562.
- 1875.** HEINDENHAIN. — Anat. und. physiol. der Nieren. *Arch. f. mikrosk. Anat.*, t. X, 1875, page 1, pl. XXI.

1881. HENNEGUY. — Coloration du protoplasma vivant par le brun de Bismark. Société philomatique, p. 52.
1896. HENNEGUY. — Voir Bolles-Lee.
- 1896-97. HÉRON DE VILLEFOSSE. — Le bleu de méthylène en 1897. Thèse, Paris.
1897. HUGOUNENCQ. — Précis de chimie physiologique et pathologique. Collection Testut, 1897.
1904. JOLYET. — Voir Viaud.
- 1901-02. JULLIEN. — La dégénérescence amyloïde et la perméabilité au bleu de méthylène. Thèse, Paris.
- 1900-01. KOHLER. — De l'emploi du bleu de méthylène chimiquement pur en thérapeutique chirurgicale. Thèse, Bordeaux.
1890. KUHN. — Notiz über vitale Reaction der Zell granula nach subcutaner methylenblauinjection. *Arch. f. Anat. und. Physiol.*, p. 113 à p. 115.
1893. LAFAYE. — Etude clinico-chimique sur l'élimination urinaire de l'iode de potassium. Thèse, Paris.
1902. LANDAU. — Action de la pression sur l'élimination du bleu de méthylène. *Journal de pathologie générale et de physiologie*, Décembre 1902.
1905. LANGLOIS. — Voir Beaufile.
1906. LAUNOY. — Précis de technique histologique, p. 101 à 115. Baillière, Paris.
1896. LEMOINE. — Thérapeutique clinique. Bataille, Paris.
1897. LEMOINE. — De l'action du bleu de méthylène sur l'albuminurie. In *Journal des praticiens*, 22 mai 1897.
1898. LÉPINE. — Valeur du chromogène. Diagnostic de la perméabilité rénale par l'épreuve du bleu de méthylène. Congrès de Montpellier. Avril, 1898.
1890. LEPPMANN. — Voir Erlich.
1875. LEGOFF. — Voir Pouchet.
1898. LEGOFF ET SAINTON. — Recherches expérimentales sur l'Eosine. *Progrès Médical*, p. 51 à p. 52.
1896. LEGOFF. — Voir Marie.
1903. LEWIN ET POUCHET. — Traité de Toxicologie.
1868. LIEBERMANN. — Voir Graëbe.

1898. LINOSSIER ET BARJON. — Influence de la réaction de l'urine sur l'élimination du bleu de méthylène, *Comptes Rendus, Soc. Biol.*, 19 mars, p. 323 à p. 324.
1903. MADER. — Propriétés hypnotiques des couleurs et du bleu de méthylène en particulier. *Bull. Soc. zoologique de France*, t. XXVIII.
1901. MAJEWSKI. — Du sort du bleu de méthylène dans le corps. In *Gazetta Lekarska*, p. 1046.
1906. MALLIÉ. — Voir Gautrelet.
- 1892-93. MARBOT. — Le bleu de méthylène en thérapeutique. Thèse, Paris.
1897. MARIE et LEGOFF. — Dosage du glucose dans le sang, par le bleu de méthylène. *C. R. Soc. biol.* p. 654.
- 1895-96. MARY. — Le bleu de méthylène dans le traitement de l'urétrite et de la vaginite gonococcique. Thèse, Paris.
1902. MAUTÉ. — Voir Claude.
1903. MEILLÈRE. — Le bleu de méthylène. *Revue générale des applications cliniques. Tribune médicale*, t. XXXV, p. 167 à p. 183.
1877. MER. — Recherches sur l'absorption cutanée dans l'Hélix Pomatia. *C. R. Soc. biol.*, p. 189.
1889. MITROPHANOW. — Ueber Zellgranulationem. *Biol. centralb.*, vol. IX, n° 17.
1905. MONGOUR. — Précis des maladies du foie, p. 190 à 193. Doin, Paris.
1897. MOITESSIER. — Voir Engel.
- 1903-04. MORY. — Le bleu de méthylène dans la diarrhée des tuberculeux. Thèse, Paris.
1894. NÖTLING. — Article matières colorantes. In supplément du *Dictionnaire de chimie pure et appliquée* de Ad. Wurst, p. 1263 à p. 1280.
1900. OVERTON, cité par Launoy. In *Précis de technique histologique*, p. 109.
1895. PACHON. — Voir Gley.
1892. PABST. — Voir Girard.
1904. PAISSEAU. — Voir Achard.

- 1896-97. PERÉS. — Contribution à l'étude de la perméabilité rénale. Son diagnostic par l'épreuve du bleu de méthylène. Thèse, Toulouse.
1900. PETIT. — Note sur un cas d'absorption accidentelle de fuchsine. *Echo médical du Nord*, p. 115 à p. 117.
- 1903-04. PERROTE. — Le bleu de méthylène dans les entérites et en particulier dans les entérites des tuberculeux. Thèse Paris.
1886. PILLIET. — Voir Talat.
1890. — Action du bleu de méthylène sur les organismes vivants. *Tribune Médicale*, p. 267.
1893. PIOTROWSKI. — Le bleu de méthylène agent inoffensif. C. R. Soc. Biol., p. 423.
- 1903-04. POLICARD. — Etude de l'élimination par le rein normal des matières colorantes étrangères à l'organisme. Th. Lyon.
1904. POUCHET. — Leçons de pharmacodynamie et de matière médicale, p. 90 à p. 156. T. IV.
1875. POUCHET et LEGOFF. — Fixation du carmin par les éléments anatomiques vivants. C. R. Soc. Biol., 11 décembre 1875.
1903. POUCHET. — Voir Lewin.
1897. PRIoux. — Contribution à l'étude du pouvoir antiseptique des dérivés de l'aniline et de leur valeur thérapeutique. Thèse, Paris.
1897. PRZESMYCKY. — Ueber die intravitale Färbung des Kerns. *Biol. centralb.* T. XVII.
- 1898-99. PRUD'HOMME. — De l'élimination prolongée du bleu de méthylène. Thèse, Paris.
1902. PUGNAT et REVILLIARD. — Elimination du bleu de méthylène. *Archives de médecine*. Août 1902.
1906. RAEHLMANN. — Nouvelles recherches ultra-microscopiques sur l'albumine, les colorants organiques, sur leur combinaison et sur la coloration des tissus organiques *Arch. für die gesammte Physiologie*. Vol CXII, p. 128 à p. 171.
- 1895-96. RAMBAUD. — Du bleu de méthylène en thérapeutique.
1904. RAYNAUD. — La chlorurie et les néphrites. Thèse Lyon.
1902. REVILLIARD. — Voir Pugat.

1899. REYNAUD et OLMER. — Valeur du chromogène. Diagnostic de la perméabilité rénale par le bleu de méthylène. C. R. Soc. Biol. 6 octobre 1899 et dans *Marseille Médical*, 1^{er} octobre 1899.
1903. RENON et GÉRAUDEL. — Le bleu de méthylène dans le traitement des ulcérations des tuberculeux. Soc. de thérapeutique. 28 janvier 1903.
1895. RICHET. — Dictionnaire de Physiologie-Alcan. Paris, t. I et VI.
1901. RIBAUT. — Action du violet de méthyle sur la fonction anticoagulante du foie. C. R. Soc. Biol., p. 442 à 443.
1904. ROGER. — Physiologie normale et pathologique du foie. Masson, Paris.
1899. ROTA. — Recherche des colorants organiques. In *Moniteur scientifique* du D^r Quesneville, p. 210. T. XIII.
1904. ROUX. — Voir de Bechi.
1904. SABRAZÈS. — Régénérations, Cicatrisations, Extirpations partielles du foie. Article : Foie. In *Dictionnaire de Physiologie* de Richet, p. 718 à 732, t. VI.
1903. SACERDOTTI. — Sur les érythrocytes des mammifères colorables à frais par le bleu de méthylène. *Arch. p. la scienza medice*, T. XXVII. Résumé in *arch. italiennes de Biologie* 1904, p. 460. T. XLI.
1898. SAINTON. — Voir Legoff.
1877. SÉE (Germain). — Etude de l'acide salicylique et les salicylates. *Bull. de l'Académie de médecine*, p. 717.
1895. SCHMIEDEBERG. — Cité par Wertheimer, Tome I. in *Dictionnaire de Physiologie* de Richet, p. 561.
1890. SCHRODER. — Harnstoffbild der Haifische (*Zeit f. phys. Chem.* T. XIV, p. 576).
- 1893-94. SIGAUT. — Contribution à l'étude du traitement des fièvres intermittentes par le bleu de méthylène. Thèse Montpellier.
1890. STILLING. — Ueber die Anwendung der Anilin-farbstoffe. *Berl. klin. Woch.*, p. 521.
1891. -- Anilin-farbstoffe als antiseptica und ihre Anwendung in der Praxis. *Berl. klin. Woch.*, p. 850.

1890. STRIMANSKY. — Nouvelle contribution à l'action antiseptique des pyoktanin. In nouveaux remèdes, p. 595.
- 1900-01. SUEUR. — Du bleu de méthylène chimiquement pur en poudre dans le traitement des métrites. Thèse, Paris.
1886. TALAT en collaboration avec PILLIET. — Recherches sur la coloration des tissus chez les animaux vivants au point de vue histologique. Thèse, Paris.
1891. TISSIER. — Sur les propriétés physiologiques et thérapeutiques des couleurs d'aniline et en particulier de la pyoktanine (violet de méthyle) et du bleu de méthylène. *Annales de médecine scientifique et pratique*, p. 59 à 62.
1898. TOGNOLI. — Influence du violet de méthyle sur la sécrétion biliaire. *Arch. italiennes de biologie*, p. 484, t. XXV.
1904. VIAULT et JOLYET. — Traité de physiologie. Doin, Paris.
1906. VILLON et GUICHARD. — *Dictionnaire de chimie industrielle*. Tignol, Paris.
1903. VIZIOLI. — Recherches histologiques dans l'empoisonnement expérimental par l'aniline. In *Gli Incurabili*, fas. 4-6, 1903. Résumé In *Arch. italiennes de biologie*, 1904, t. XLII.
1897. VOISIN et HAUSER. — Remarques sur l'élimination rénale du bleu de méthylène. In *Gazette hebdomadaire de méd. et de chirurgie*, 27 mai 1897, p. 493 à p. 494,
1902. WEIL. — Voir Gilbert.
1895. WERTHEIMER. — Article Aniline. In dictionnaire de Physiologie de Richet, p. 556 à p. 564, t. I.
1876. OTTO WITT. — Dict. Chem. G., p. 552, t. IX.
1875. VON WITTICH. — Physiol. der Nieren. *Arch. f. mikr. anat.*, p. 74.
-

